

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung
(Lehrstuhl für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung: Prof. Dr. H. Zerbe)
Im Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. R. Mansfeld

**Beziehungen zwischen peripartal gemessenen Fettsäurekonzentrationen im
Blut und postpartalen Gebärmuttererkrankungen bei Milchkühen**

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

vorgelegt von
Mareike Muth
aus Neumünster

München 2011

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Referent: Univ.-Prof. Dr. Mansfeld
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Kienzle

Tag der Promotion: 12. Februar 2011

**für Roland
und
für meine Eltern**

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VI
TABELLENVERZEICHNIS	XI
VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN	XII
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATUR	2
2.1 Puerperale Gebärmutterentzündungen als Ursache für Fertilitätsprobleme	2
2.1.1 Physiologie und Pathologie des Puerperiums	2
2.1.2 Das Immunsystem des Uterus	3
2.1.2.1 Die zelluläre Abwehr	3
2.1.2.2 Die humorale Abwehr	4
2.1.2.3 Die anatomischen und physikalischen Barrieren der Abwehr	5
2.1.2.4 Wirkung hormoneller Veränderungen auf das Immunsystem	6
2.1.2.5 Auswirkung der Stoffwechselsituation auf das Immunsystem	6
2.1.2.6 Die peripartale Immunsuppression der Milchkuh	7
2.1.3 Entzündliche Erkrankungen des Uterus	7
2.1.3.1 Die puerperale und die klinische Metritis	8
2.1.3.2 Die klinische Endometritis	8
2.1.3.3 Die Pyometra	9
2.1.3.4 Die subklinische Endometritis	9
2.1.4 Ätiologie und Pathogenese puerperaler Gebärmutterentzündungen	9
2.1.5 Risikofaktoren	10
2.1.6 Häufigkeiten uteriner Erkrankungen	13
2.1.7 Folgen uteriner Entzündungen	15
2.1.7.1 Folgen für das Einzeltier	15
2.1.7.2 Ökonomische Folgen von Gebärmutterentzündungen	17
2.2 Die Bedeutung der Fettsäuren im Metabolismus der Milchkuh	18
2.2.1 Überblick über grundlegende Aspekte des Fettsäurestoffwechsels	18
2.2.1.1 Nomenklatur der Fettsäuren	18

2.2.1.2	Vorkommen, Aufnahme und Speicherung von Fettsäuren	18
2.2.1.3	Die Biosynthese der Fettsäuren	19
2.2.1.4	Fettsäuren als Membranbestandteile	22
2.2.1.5	Die Eicosanoidsynthese	22
2.2.1.6	Omega-Fettsäuren	24
2.2.1.7	Die Situation des Fettstoffwechsels im peripartalen Zeitraum	26
2.2.1.8	Bedeutung und Verlauf der NEFA im peripartalen Zeitraum	27
2.2.2	Die Bedeutung einzelner Fettsäuren und verschiedener Fettsäuregruppen für das Immunsystem	29
2.2.2.1	Erkenntnisse aus In-vitro-Versuchen	29
2.2.2.2	Erkenntnisse aus Fütterungsversuchen	31
2.2.3	Die Bedeutung einzelner Fettsäuren und verschiedener Fettsäuregruppen für die Reproduktionsorgane	33
2.2.3.1	Erkenntnisse aus In-vitro-Versuchen	34
2.2.3.2	Erkenntnisse aus Fütterungsversuchen	36
2.2.3.3	Einfluss von Fettsäuren und deren Metaboliten auf die frühe Embryonalentwicklung	39
2.2.4	Fettsäuremuster im Blut und in einzelnen Organen des Rindes	40
3	MATERIAL UND METHODEN	44
3.1	Material	44
3.1.1	Herkunft des Probenmaterials	44
3.1.2	Geräte	44
3.1.3	Reagenzien	45
3.1.4	Verbrauchsmaterialien	46
3.2	Methoden	47
3.2.1	Probengewinnung und -verarbeitung	47
3.2.2	Klinische Untersuchung des Uterus	48
3.2.3	Bestimmung der Fettsäure-Methyl-Ester (FAME) in Serumproben	48
3.2.4	Datenerfassung und Auswertung	55
3.2.5	Reproduzierbarkeit der Messergebnisse	55

3.2.6 Bestimmung des technischen Fehlers der Messungen	55
3.2.7 Quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren im Serum	56
3.2.8 Statistik	56
4 ERGEBNISSE	58
4.1 Ergebnisse der Methodenprüfung	58
4.1.1 Reproduzierbarkeit der Messung biologischer Proben	59
4.1.2 Technischer Fehler	59
4.2 Bestimmung der Konzentrationen der Fettsäuren	60
4.2.1 Tetradecansäure	60
4.2.1.1 Verlauf der Konzentrationen der Tetradecansäure	60
4.2.1.2 Verlauf der Konzentrationen der Tetradecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	62
4.2.2 Hexadecansäure	64
4.2.2.1 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecansäure	64
4.2.2.2 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	66
4.2.3 Hexadecaensäure	68
4.2.3.1 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecaensäure	68
4.2.3.2 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	70
4.2.4 Octadecansäure	72
4.2.4.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecansäure	72
4.2.4.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	74
4.2.5 Octadecaensäure	76
4.2.5.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecaensäure	76
4.2.5.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	78
4.2.6 Octadecadiensäure	80
4.2.6.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecadiensäure	80

4.2.6.2	Verlauf der Konzentrationen der Octadecadiensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	82
4.2.7	Octadecatriensäure	84
4.2.7.1	Verlauf der Konzentrationen der Octadecatriensäure	84
4.2.7.2	Verlauf der Konzentrationen der Octadecatriensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	86
4.2.8	Eicosansäure	88
4.2.8.1	Verlauf der Konzentrationen der Eicosansäure	88
4.2.8.2	Verlauf der Konzentrationen der Eicosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	89
4.2.9	Eicosatetraensäure	90
4.2.9.1	Verlauf der Konzentrationen der Eicosatetraensäure	90
4.2.9.2	Verlauf der Konzentrationen der Eicosatetraensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	92
4.2.10	Docosansäure	94
4.2.10.1	Verlauf der Konzentrationen der Docosansäure	94
4.2.10.2	Verlauf der Konzentrationen der Docosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	96
4.2.11	Tetracosansäure	98
4.2.11.1	Verlauf der Konzentrationen der Tetracosansäure	98
4.2.11.2	Verlauf der Konzentrationen der Tetracosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	100
4.2.12	Docosahexaensäure	102
4.2.12.1	Verlauf der Konzentrationen der Docosahexaensäure	102
4.2.12.2	Verlauf der Konzentrationen der Docosahexaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	104
4.2.13	Tetracosensäure	106
4.2.13.1	Verlauf der Konzentrationen der Tetracosensäure	106
4.2.13.2	Verlauf der Konzentrationen der Tetracosensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen	108
4.2.14	Verlauf der Konzentrationen der Gesamtfettsäuren	110
4.2.15	Verlauf der Konzentrationen der freien Fettsäuren (NEFA)	112

4.3	Bestimmung der Fettsäuregruppen	114
4.3.1	Verlauf der Konzentrationen der gesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	114
4.3.2	Verlauf der Konzentrationen der einfach ungesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	116
4.3.3	Verlauf der Konzentrationen der mehrfach ungesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	118
4.4	Bestimmung der Omega-Fettsäuren	120
4.4.1	Verlauf der Konzentrationen der Omega-3-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	120
4.4.2	Verlauf der Konzentrationen der Omega-6-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	122
4.4.3	Verlauf der Konzentrationen der Omega-9-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren	124
4.4.4	Verhältnis der Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren	126
4.5	Nicht bestimmbare Parameter	128
4.6	Reihenfolge der Häufigkeiten der vorkommenden Fettsäuren	128
5	DISKUSSION	129
5.1	Ziel der Studie	129
5.2	Diskussion der Methoden	129
5.3	Diskussion der Ergebnisse	131
5.4	Schlussfolgerungen	144
6	ZUSAMMENFASSUNG	145
7	SUMMARY	147
8	LITERATURVERZEICHNIS	149
9	ANHANG	173
10	DANKSAGUNG	177

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Schematische Darstellung der Umwandlungsprozesse einzelner Fettsäuren in andere durch Desaturation und Elongation, nach Abayasekara und Wathes (1999)	21
Abbildung 2	Darstellung der Synthesewege der Eicosanoide aus Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren.	24
Abbildung 3	Verwendetes Gaschromatographie/Massenspektrometrie-System	48
Abbildung 4	Schematischer Aufbau eines Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Systems	49
Abbildung 5	Reaktionsschema des Derivatisierungsprozesses von Fettsäuren zu Fettsäuremethylestern (FAME)	50
Abbildung 6	Schematische Darstellung der Probenvorbereitung zu Herstellung der Fettsäuremethylester nach Masood et al. (2005)	51
Abbildung 7	Übersicht über den Analyseprozess zur Bestimmung der Gesamtfettsäuren	52
Abbildung 8	Beispielhafte Darstellung einer Kalibrationskurve der Fettsäure Octadecatriensäure (C18:3n3)	54
Abbildung 9	Schematische Darstellung eines Boxplots	57
Abbildung 10	Graphische Darstellung der relativen Standardabweichungen der Reproduzierbarkeitsmessungen der Serumprobe 135G	59
Abbildung 11	Graphische Darstellung des technischen Fehlers in Prozent	59
Abbildung 12	Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	61
Abbildung 13	Verlauf der Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	61
Abbildung 14	Relative Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	63
Abbildung 15	Verlauf der relativen Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten.	63
Abbildung 16	Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten.	65
Abbildung 17	Verlauf der Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	65

Abbildung 18	Relative Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	67
Abbildung 19	Verlauf der relativen Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	67
Abbildung 20	Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	69
Abbildung 21	Verlauf der Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	69
Abbildung 22	Relative Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	71
Abbildung 23	Verlauf der relativen Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	71
Abbildung 24	Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	743
Abbildung 25	Verlauf der Konzentration C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	73
Abbildung 26	Relative Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	75
Abbildung 27	Verlauf der relativen Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	75
Abbildung 28	Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	77
Abbildung 29	Verlauf der Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	77
Abbildung 30	Relative Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	79
Abbildung 31	Verlauf der relativen Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	79
Abbildung 32	Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	81

Abbildung 33	Verlauf der Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	81
Abbildung 34	Relative Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	83
Abbildung 35	Verlauf der relativen Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	83
Abbildung 36	Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	85
Abbildung 37	Verlauf der Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	85
Abbildung 38	Relative Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	87
Abbildung 39	Verlauf der relativen Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	87
Abbildung 40	Konzentration der C20:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	88
Abbildung 41	Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	91
Abbildung 42	Verlauf der Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	91
Abbildung 43	Relative Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	93
Abbildung 44	Verlauf der relativen Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	93
Abbildung 45	Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	95
Abbildung 46	Verlauf der Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	95
Abbildung 47	Relative Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	97

Abbildung 48	Verlauf der relativen Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	97
Abbildung 49	Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	99
Abbildung 50	Verlauf der Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	99
Abbildung 51	Relative Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	101
Abbildung 52	Verlauf der relativen Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	101
Abbildung 53	Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	103
Abbildung 54	Verlauf der Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	103
Abbildung 55	Relative Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	105
Abbildung 56	Verlauf der relativen Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	105
Abbildung 57	Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten.	107
Abbildung 58	Verlauf der Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	107
Abbildung 59	Relative Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	109
Abbildung 60	Verlauf der relativen Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	109
Abbildung 61	Konzentration der Gesamtfettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	111
Abbildung 62	Verlauf der Konzentration der Gesamtfettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	111

Abbildung 63	Konzentration der NEFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	113
Abbildung 64	Relative Konzentration der SFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	115
Abbildung 65	Verlauf der relativen Konzentration der SFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	115
Abbildung 66	Relative Konzentration der MUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	117
Abbildung 67	Verlauf der relativen Konzentration der MUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	117
Abbildung 68	Relative Konzentration der PUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	119
Abbildung 69	Verlauf der relativen Konzentration der PUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	119
Abbildung 70	Relative Konzentration der Omega-3-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	121
Abbildung 71	Verlauf der relativen Konzentration der Omega-3-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	121
Abbildung 72	Relative Konzentration der Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	123
Abbildung 73	Verlauf der relativen Konzentration der Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	123
Abbildung 74	Relative Konzentration der Omega-9-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	125
Abbildung 75	Verlauf der relativen Konzentration der Omega-9-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	125
Abbildung 76	Verhältnis der Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	127
Abbildung 77	Verlauf des Verhältnisses Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten	127

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Risikofaktoren für uterine Entzündungen	12
Tabelle 2:	Häufigkeiten uteriner Erkrankungen	14
Tabelle 3:	Konzentrationswerte von Fettsäuren und Fettsäuregruppen bei Rindern	43
Tabelle 4:	Entnahmezeitpunkte der Blutproben	47
Tabelle 5:	Heizprogramm des Säulenofens	53
Tabelle 6:	Reproduzierbarkeit der einzelnen Analyten des Kalibrationspunktes 0,1563 mmol/l	58
Tabelle 7:	Tabellarische Darstellung der wichtigsten Fettsäuren mit Nomenklatur	173
Tabelle 8:	Komponenten des Kalibrationsstandards	174
Tabelle 9:	Komponenten des Internen Standards 1	175
Tabelle 10:	Komponenten des Internen Standards 2	175
Tabelle 11	Kalibrierbereiche der einzelnen Fettsäuren	176

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
a.p.	ante partum
A. pyogenes	Arcanobacterium pyogenes
ATP	Adenosintriphosphat
BCS	Body Condition Score
BHB	β -Hydroxybutyrat
BHT	Butylhydroxytoluol
bzw.	beziehungsweise
C-Atom	Kohlenstoffatom
C.I.	Corpus luteum
CoA	Coenzym A
COX	Cyclooxygenase
E. coli	Escheria coli
et al.	et alii
FAME	Fettsäuremethylester (Fatty Acid Methyl Ester)
FSH	follikelstimulierendes Hormon
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IGF	Insulinähnlicher Wachstumsfaktor (Insulin-like Growth Factor)
IL	Interleukin
IS	Interner Standard

LH	luteinisierendes Hormon
LOX	Lipoxygenase
LT	Leukotrien
LX	Lipoxin
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex)
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäuren (Monounsaturated Fatty Acids)
NEFA	freie Fettsäuren (Non-Esterified Fatty Acids)
PG	Prostaglandin
PLA ₂	Phospholipase A ₂
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
p.p.	post partum
PPAR	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
PPi	Pyrophosphat
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren (Polyunsaturated Fatty Acids)
ROS	reaktive Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species)
SFA	gesättigte Fettsäuren (Saturated Fatty Acids)
TAG	Triacylglycerin
TM-Aufnahme	Trockenmasseaufnahme
TNF α	Tumornekrosefaktor α
TX	Thromboxan
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Gebärmutterentzündungen mit ihren verschiedenen Ausprägungsformen gehören zu den kostenintensivsten Störungen beim Milchrind (Sheldon 2004, Lee und Kim 2007, Sheldon et al. 2008). Die Kosten entstehen nicht nur direkt durch die Behandlung der erkrankten Tiere, sondern auch indirekt in Form von zusätzlich erforderlichen Besamungen, absinkender Milchleistung und Beeinträchtigung der Fertilität (LeBlanc et al. 2002b, LeBlanc 2008, Sheldon et al. 2008). Somit stellen Gebärmutterentzündungen einen wesentlichen wirtschaftlichen Faktor in Milchviehbetrieben dar.

Fettsäuren spielen im Energiestoffwechsel des Rindes eine entscheidende Rolle. Sie beeinflussen viele biologische Prozesse wie z.B. die Genexpression oder die Signaltransduktion (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000). Sie sind am Aufbau von Zellmembranen beteiligt (Nguyen et al. 2008) und bilden das Ausgangssubstrat vieler Metabolite, wie z.B. Steroidhormone oder Prostaglandine (Engelhardt und Breves 2000, Gil 2002). Fettsäuren beeinflussen zudem viele Funktionen und Regelprozesse des Immunsystems und der Reproduktionsorgane (Urich 1990, de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Löffler 2002, Arab 2003, Zamaria 2004, Calder 2008).

Beim Rind dienen die freien Fettsäuren (Non-Esterified Fatty Acids, NEFA) zur Beurteilung des Energiestatus (Brickner et al. 2007). Ihre Konzentration wird in Forschung und Praxis zur Diagnose und Beurteilung des Schweregrades einer negativen Energiebilanz während der Transitperiode herangezogen. Es wurde festgestellt, dass Tiere mit einer stark ausgeprägten negativen Energiebilanz stärker gefährdet sind, an postpartalen Erkrankungen wie Gebärmutter- oder Euterentzündungen zu erkranken (Kaneene et al. 1997, Drackley 2000, LeBlanc et al. 2005). Dieser Zeitraum der erhöhten Anfälligkeit für Infektionen deckt sich mit dem Zeitraum der Immunsuppression, der bei Rindern geburtsnah festgestellt wurde. Dies führt zu der Vermutung, dass ein Zusammenhang zwischen dem Fettstoffwechsel, der Funktion des Immunsystems und dem Entstehen von Gebärmutterentzündungen besteht.

Ziel der vorliegenden Studie war die quantitative und qualitative Bestimmung der Gesamtfettsäuren in bovinen Serumproben sowie die Darstellung der Konzentrationsverläufe der einzelnen Fettsäuren während des peripartalen Zeitraums. Des Weiteren sollte festgestellt werden, ob zwischen Kühen, die postpartal an einer Gebärmutterentzündung erkranken, und gesunden Tieren Unterschiede in den Konzentrationen einzelner Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen vorliegen.

2 Literatur

2.1 Puerperale Gebärmutterentzündungen als Ursache für Fertilitätsprobleme

Puerperale Entzündungen der Gebärmutter gehören zu den bedeutendsten Erkrankungen in Milchviehherden (Lewis 1997, Sheldon et al. 2002, Sheldon und Dobson 2004, Földi et al. 2006, Sheldon et al. 2008). Sie bedingen eine massive Senkung der Reproduktionsleistung innerhalb eines Milchviehbetriebes und sind einer der Hauptgründe für Sub- und Infertilität (Sheldon und Dobson 2004, LeBlanc 2005, de Vries 2006). Auf diesem Erkrankungskomplex liegt daher ein Hauptaugenmerk der Forschung, was in der Vielzahl der Veröffentlichungen besonders deutlich wird. In den letzten 40 Jahren haben sich über 500 Arbeiten mit diesem Themenkomplex beschäftigt (Sheldon et al. 2006, Sheldon et al. 2008).

2.1.1 Physiologie und Pathologie des Puerperiums

Während der Transitperiode in der Zeit drei Wochen a.p. bis drei Wochen p.p. (Grummer 1995) muss der Organismus der Milchkuh von Trächtigkeit auf Laktation umschalten. Um dies zu bewältigen, bedarf es tief greifender Veränderungen im Stoffwechsel, im Hormonhaushalt und in einzelnen Organen wie Uterus oder Euter (Drackley 2004).

Das Puerperium erstreckt sich vom Abgang der Nachgeburt bis zur vollständigen Rückbildung des Genitalapparates. In diesem Zeitraum wird der Uterus auf eine erneute Trächtigkeit vorbereitet. Während des Puerperiums erfolgen die Involution der Gebärmutter, die Regeneration des Endometriums, die Elimination bakterieller Kontaminationen und das Einsetzen der Zyklusaktivität. Der initiale Stimulus dieser Prozesse ist das Ausstoßen der Frucht sowie der Abgang der Nachgeburt. Der Involutionsprozess beinhaltet das Schrumpfen, Nekrotisieren und Ablösen der Karunkel. Dieses Gewebe wird im Lochialsekret ausgestoßen (Sheldon et al. 2008). Außerdem verkürzen sich die Muskelfasern des Myometriums (Bondurant 1999). Nach ca. 25 Tagen p.p. ist das Epithel des Endometriums nahezu vollständig regeneriert (Sheldon et al. 2008).

Für eine erneute Trächtigkeit bedarf es einer ungestörten Aufnahme der Zyklusaktivität. Die meisten Milchkuhe haben ihre erste Ovulation 17 bis 27 Tage nach der Kalbung (Bondurant 1999). Mit fortschreitender Involution werde normalerweise die meisten Keime innerhalb der ersten fünf Wochen p.p. aus dem Uterus eliminiert (Sheldon et al. 2006), und bei einem Großteil der Tiere, die kurz nach dem Abkalben eine Kontamination des Uterus mit Umwelt-

keimen aufweisen, kommt es zum Selbstreinigungsprozess innerhalb der ersten zwei bis sechs Wochen p.p. (Lewis 1997, Zerbe et al. 2005, Chapwanya 2008, Gautam et al. 2010).

2.1.2 Das Immunsystem des Uterus

Das Immunsystem des Uterus spielt eine bedeutende Rolle bei der Erhaltung der Trächtigkeit, es unterstützt fetales Wachstum und verhindert bzw. beseitigt Infektionen. Die erste Abwehr von Mikroorganismen erfolgt durch das unspezifische bzw. angeborene Immunsystem, dessen Komponenten binnen kurzer Zeit zur Verfügung stehen. Mit einer zeitlichen Verzögerung von Tagen bis Wochen reagiert das spezifische bzw. adaptive Immunsystem, welches sich im Laufe des Lebens entwickelt. Neben einer Vielzahl von zellulären und humoralen Komponenten gehören auch anatomische und physikalische Barrieren zu den Abwehrmechanismen der Gebärmutter (Bondurant 1999). Die Entwicklung einer klinischen Erkrankung ist immer abhängig von der Balance zwischen der Immunität des Wirtes und der Pathogenität der Bakterien (Sheldon et al. 2009).

2.1.2.1 Die zelluläre Abwehr

Die unspezifische zelluläre Immunreaktion wird in der Gebärmutter durch Leukozyten vermittelt (Dhaliwal et al. 2001, Azawi 2008). Die wichtigsten Zellen der unspezifischen Abwehr sind die neutrophilen Granulozyten (PMN) (Bondurant 1999, Sheldon und Dobson 2004). Durch Phagozytose bilden sie die initiale Zellabwehr gegen bakterielle Invasionen (Lewis 1997, Dhaliwal et al. 2001, Sheldon und Dobson 2004, Földi et al. 2006, Hammon et al. 2006, Sheldon et al. 2009). Die PMN werden mittels Chemotaxis an den Entzündungsort rekrutiert (Zerbe et al. 2000, Singh et al. 2008). Dieser Vorgang wird u.a. durch die Bakterien selbst, durch Substanzen, die bei deren Zerstörung freigesetzt werden, oder durch Komponenten des Komplementsystems (Kimura et al. 2002) ausgelöst. Nach der durch Adhäsine vermittelten Kontaktaufnahme der Neutrophilen mit dem Gefäßendothel kommt es zur Extravasation, der sogenannten Diapedese und es folgt die Migration der Fresszellen in das Entzündungsgebiet. Nach Aktivierung der PMN beginnt der Phagozytoseprozess, der aus den Teilschritten Adhäsion, Ingestion und Digestion besteht (Lewis 1997, Dhaliwal et al. 2001, Azawi 2008).

Während des Phagozytoseprozesses werden außerdem bakterizide Substanzen, wie z.B. Superoxidradikale, freigesetzt (Hammon et al. 2006). Der Abtötungsprozess von Pathogenen durch Oxidation mittels Sauerstoffradikalen (O_2^- , H_2O_2 , OCl^-) wird in der Literatur auch als Oxidative Burst oder Atmungsstoß bezeichnet. Jegliche Störung dieser Immunfunktion führt

zur Erkrankung des betroffenen Organs (Földi et al. 2006). Weitere Zellen der unspezifischen Abwehr sind mononukleäre Phagozyten, die sich im Entzündungsgebiet zu Makrophagen differenzieren und natürliche Killerzellen (NK), die virusinfizierte Zellen und Tumorzellen erkennen und abtöten (Engelhardt und Breves 2000).

B- und T-Lymphozyten bilden das spezifische zelluläre Immunsystem, wobei die B-Zellen, die humorale und die T-Zellen die zelluläre Immunreaktion vermitteln (Engelhardt und Breves 2000).

2.1.2.2 Die humorale Abwehr

Die humorale Abwehr besteht aus löslichen Faktoren, wobei der wichtigste Träger der humoralen, unspezifischen Abwehr das Komplementsystem ist. Durch die Aktivierung dieses Systems kommt es zur Opsonierung, zur Chemotaxis, zur Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten sowie zur Zellyse (Engelhardt und Breves 2000). Weitere lösliche Faktoren des unspezifischen Immunsystems sind Interferone, Akute-Phase-Proteine, Laktoferrine, Lysozyme oder Defensine (Sheldon und Dobson 2004).

Humorale Faktoren des spezifischen Immunsystems sind u.a. Immunglobuline (Ig) und Zytokine. Im Uterus kommen alle Immunglobulin-Klassen bis auf Ig E vor. Ihre Funktion besteht darin, bakterielle Partikel zu opsonieren und somit die Phagozytose zu verbessern, Bakterien direkt zu lysieren oder das Komplementsystem zu aktivieren (Engelhardt und Breves 2000).

Sobald einwandernde Pathogene durch Immunzellen mittels Toll-Like-Rezeptor erkannt werden, kommt es in Uterus, Plazenta oder fetalem Gewebe zur Synthese von Zytokinen (Young et al. 2002). Zytokine sind proinflammatorische Proteine, die an der Regulation der Immunantwort beteiligt sind. Sie werden beispielsweise durch Leukozyten, die aus der Peripherie in das Endometrium einwandern, synthetisiert (Sheldon und Dobson 2004, Azawi 2008). Dadurch können noch mehr Leukozyten rekrutiert und aktiviert werden. Zu den für den Abwehrprozess in der Gebärmutter wichtigen Zytokinen gehören u.a. die Interleukine (IL) (Sheldon und Dobson 2004). Dabei handelt es sich um Proteine, die zur Kommunikation zwischen den einzelnen Leukozyten dienen. Sie werden im Uterus durch Epithel- und Stromazellen sezerniert (Azawi 2008). Während der Abkalbung kommt es zu einem Anstieg von IL 1 im Serum, durch den es zu einer Verbesserung der Vasodilatation und zu einer verstärkten Migration von Leukozyten ins Endometrium kommt. Zusätzlich erhöht sich die Kalziumkonzentration im Plasma. Diese Erhöhung stimuliert die Kontraktion des Myometriums und folglich auch den Ausstoß von Zelltrümmern und Fremdpartikeln. Darüber

hinaus regt IL 1 auch die Prostaglandinsynthese an, wodurch sich die Kontraktion und die Entleerung des Uterus verbessert (Davidson et al. 1995). In der frühen Phase einer Entzündung wird das proinflammatorisch wirksame IL 6 produziert. Es aktiviert reife neutrophile Granulozyten und trägt zu einer verbesserten Reifung der Neutrophilen bei. Außerdem unterstützt es die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen und die Differenzierung natürlicher Killerzellen (Ishikawa et al. 2004). Zusätzlich fungiert IL 6 auch als Wachstumsfaktor und induziert die Expression von Oxytocinrezeptoren in Zellen des Myometriums, wodurch die Ansprechbarkeit gegenüber Oxytocin ansteigt. Hohe Level an IL 6 stehen in Verbindung mit boviner Endometritis, niedrige Werte hingegen mit Nachgeburtsverhaltung (Singh et al. 2008). Ein wichtiger Aktivierungsfaktor für die phagozytierenden Granulozyten ist IL 8. Gebiete, in denen hohe Konzentrationen von IL 8 vorherrschen, wirken anziehend auf neutrophile Granulozyten. Nach der Kalbung wird dieses Zytokin vermehrt produziert. Bei Kühen, die an einer Nachgeburtsverhaltung leiden, fällt dieser Anstieg aber deutlich geringer aus als bei Gesunden (Kimura et al. 2002).

2.1.2.3 Die anatomischen und physikalischen Barrieren der Abwehr

Die erste Hürde für aufsteigende Mikroorganismen bilden anatomische Barrieren wie die Vulva, das Vestibulum mit seinen Muskelsphinkteren sowie die Zervix mit ihren kollagenen Ringen (Földi et al. 2006, Azawi 2008). Dieser Schutzmechanismus durch den Verschluss der Geburtswege besteht nach der Kalbung nicht, der Geburtsweg steht weit offen (Zerbe et al. 2005).

Der vaginal und zervikal sezernierte Mukus bildet eine physikalische Barriere gegen aufsteigende Keime (Bondurant 1999, Dhaliwal et al. 2001, Sheldon und Dobson 2004). Unter der Einwirkung von Östradiol steigt die zervikale Produktion an (Stevenson 1997). Unter Progesteroneinfluss hingegen nimmt sie ab (Rodriguez-Martinez et al. 1987).

Eine weitere Barriere bilden die longitudinalen und zirkulären Muskelschichten des Myometriums. Ihre Aufgabe ist es, durch Kontraktion Fremdmaterial und pathogene Keime auszustößen (Bondurant 1999). Östradiol erhöht die uterine Kontraktilität (Stevenson 1997), während Progesteron diese verhindert (Rodriguez-Martinez et al. 1987). Fehlt die Kontraktilität des Myometriums, was bei zu wenig Bewegung, Hypokalzämie oder zu geringer Oxytocinausschüttung der Fall ist, kommt es nach einer Kalbung zur Stagnation und Anhäufung von Lochialsekret. Dies hat eine Erhöhung des Risikos für bakterielle Komplikationen zur Folge (Lewis 1997).

2.1.2.4 Wirkung hormoneller Veränderungen auf das Immunsystem

Das luteolytische Hormon Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) wirkt proinflammatorisch. Dies zeigt sich beispielsweise in der Stimulation der Produktion von Zytokinen (Hoedemaker et al. 1992, Lewis 2003) oder einer verbesserten Chemotaxis der PMN (Hoedemaker et al. 1992, Sheldon et al. 2009). Sind in der Gebärmutter Bakterien vorhanden, kommt es zur Erhöhung der Konzentration von $PGF_{2\alpha}$. Dieser Vorgang ist somit ein bedeutendes Signal für die Abwehr im Uterus (Hoedemaker et al. 1992). Bei Kühen mit Uterusinfektionen konnten im Vergleich zu gesunden Kühen p.p. niedrigere $PGF_{2\alpha}$ -Konzentration nachgewiesen werden, was Hinweise auf eine beeinträchtigte Abwehrfunktion dieser Tiere liefern könnte (Seals et al. 2002).

Viele Autoren betonen, dass die Steroidhormone die Immunfunktion und Immunantwort des Uterus beeinflussen (Bondurant 1999, Dhaliwal et al. 2001, Lewis 2003, Sheldon et al. 2008). Unter anderem bewirken erhöhte Östradiolkonzentrationen während des Östrus eine Erhöhung der Immunfunktion (Bretzlaff 1987, Hoedemaker et al. 1992, Bondurant 1999, Seals et al. 2003, Sheldon et al. 2006). Dies zeigt sich z.B. in einer gesteigerten Phagozytose (Bretzlaff 1987), einer Verbesserung der Bakterizidität (Bondurant 1999) sowie des Oxidative Burst und der Chemotaxis (Hoedemaker et al. 1992). Somit sorgen hohe Östradiolwerte in einer Phase hoher Keimbelastung für eine Stimulierung der Immunfunktionen (Ramadan et al. 1997). Im Vergleich zur Östrogendominanz ist das Endometrium unter Progesteroneinfluss anfälliger für Infektionen (Lewis 2003, Sheldon et al. 2008). Die erhöhten Progesteronkonzentrationen während der Lutealphase wirken sich negativ auf die Stimulation der Leukozyten aus (Hawk et al. 1964). Zudem hemmen sie die Phagozytose (Cai et al. 1994), senken die Synthese von Eicosanoiden sowie die Proliferation peripherer Lymphozyten (Lewis 2003).

2.1.2.5 Auswirkung der Stoffwechselsituation auf das Immunsystem

Vor der Kalbung sinkt die Trockenmasseaufnahme (TM-Aufnahme), was infolge einer negativen Energiebilanz mit einer erhöhten Lipomobilisation und der Freisetzung von freien Fettsäuren (Non-Esterified Fatty Acids, NEFA) verbunden ist (Grummer et al. 2004). Der Zeitpunkt des Auftretens erhöhter Konzentrationen an freien Fettsäuren im Blut sowie der verminderten TM-Aufnahme decken sich mit dem Auftreten der peripartalen Immunsuppression. Daraus lässt sich ableiten, dass Störungen des Energiehaushaltes einen Beitrag zur Hemmung der Immunfunktion leisten (Rukkwamsuk et al. 1998, Hammon et al. 2006), wodurch eine erhöhte Anfälligkeit für lokale und systemische Infektionen p.p. entsteht. Hammon et al. (2006) zeigten in ihrer Studie, dass die Suppression des Immunsystems mit

erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren, erniedrigter TM-Aufnahme und einer verminderten Myeloperoxidaseaktivität der PMN einhergeht. Diese Hemmung trat bereits eine Woche vor der Kalbung auf und hielt bis zu drei Wochen an. Auch Hoeben et al. (1997) und Zerbe et al. (2005) konnten zeigen, dass sich Störungen des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels negativ auf die Funktion der PMN auswirken. Laut Goff und Horst (1997) tragen eine negative Energiebilanz, niedrige Konzentrationen an Spurenelementen und Vitaminen, Fett- und Proteinmobilisation, hormonelle Veränderungen zum Ende der Trächtigkeit sowie die massive Freisetzung von Cortisol während der Kalbung zur Immunsuppression bei.

2.1.2.6 Die peripartale Immunsuppression der Milchkuh

Während der letzten 10 bis 15 Tage vor der Kalbung steigt bei klinisch gesunden Kühen die Anzahl der PMN im Kreislauf (Cai et al. 1994, Mateus et al. 2002a). Innerhalb der ersten sieben Tage p.p. nimmt sie wieder ab (Cai et al. 1994). Laut Mateus et al. (2002b) begünstigt ein Anstieg der intrauterinen PMN, sowie eine Erhöhung des Oxidative Burst die spontane Heilung uteriner Infektionen. Einige Autoren sind der Überzeugung, dass es während uteriner Entzündungen zu einer Funktionshemmung der PMN kommt (Lewis 1997, Hammon et al. 2006). Kühe, die an einer Metritis erkrankten, zeigten antepartal einen weniger ausgeprägten Anstieg und postpartal eine geringere Abnahme der Anzahl der PMN (Cai et al. 1994). Die PMN dieser Tiere zeigten eine schwächere Phagozytoseaktivität sowie eine verminderte Zytotoxizität. Die Phagozytoseaktivität der PMN von Tieren mit Schweregeburten war ebenfalls verringert (Paisley et al. 1986). Laut Zerbe et al. (2005) tragen die durch den Geburtsstress bedingten hohen Cortisolwerte zur peripartalen Immunsuppression bei. Nach der experimentellen Gabe von Glukokortikoiden zeigten Versuchstiere eine herabgesetzte Expression von Adhäsinen, wodurch es zu einer verminderten Migration der neutrophilen Granulozyten kam.

2.1.3 Entzündliche Erkrankungen des Uterus

Die Termini Metritis und Endometritis werden in Theorie und Praxis für eine Vielzahl verschiedener uteriner Entzündungsprozesse genutzt (Bondurant 1999, LeBlanc 2008). Diese uneinheitliche Terminologie führt in der Fülle der Veröffentlichungen zu Konfusion und erschwert den Vergleich verschiedener Studien untereinander. Da viele Autoren außerdem ihre Diagnosekriterien und Klassifizierungen nur unzureichend beschreiben (Lewis 1997), gestaltet sich die Interpretation der Ergebnisse schwierig. Um dem entgegen zu wirken, schlagen Sheldon et al. (2006) eine Terminologie vor, die auf einer umfangreichen Literaturliteraturanalyse und eigenen Forschungsergebnissen basiert. Sie beinhaltet neben einem Diagnose-

schlüssel die Definitionen der fünf wichtigsten Formen bakterieller Infektionen der Gebärmutter: Puerperale Metritis, klinische Metritis, klinische Endometritis, Pyometra und subklinische Endometritis.

2.1.3.1 Die puerperale und die klinische Metritis

Bei der puerperalen Metritis handelt es sich um eine durch Bakterien verursachte akute systemische Erkrankung, die meistens innerhalb der ersten zehn Tage p.p. auftritt. Die Gebärmutter ist zu diesem Zeitpunkt abnorm vergrößert. Alle Schichten der Uteruswand, also das Endometrium, das darunter liegende Drüsengewebe und das Myometrium, sind von der Entzündung betroffen (Lewis 1997). Kennzeichnend ist ein übel riechender, rotbrauner, wässriger vaginaler Ausfluss. Dieser wird begleitet von einem gestörten Allgemeinbefinden in Form von Fieber ($> 39,5^{\circ}\text{C}$), Mattigkeit, Inappetenz und Rückgang der Milchleistung. In schweren Fällen kommt es zu Anorexie, erhöhter Herzfrequenz und Dehydratation.

Bei einer klinischen Metritis liegen die gleichen Uterussymptome wie bei der puerperalen Metritis vor, jedoch zeigen die Tiere keine Störung des Allgemeinbefindens und kein Fieber.

2.1.3.2 Die klinische Endometritis

Unter den Terminus klinische Endometritis fallen solche Erkrankungen der Gebärmutter, die nach dem 21. Tag p.p. auftreten und nicht von systemischen Krankheitsanzeichen begleitet werden (Bondurant 1999). Histologisch gesehen ist nur das Endometrium sowie das darunter liegende Drüsengewebe von der Entzündung betroffen (Correa et al. 1993). Dieser oberflächliche Entzündungsprozess verursacht Veränderungen des Oberflächenepithels sowie eine vaskuläre Kongestion mit nachfolgendem Stromaödem. Es kommt zur Einwanderung neutrophiler Granulozyten und anderer Entzündungszellen (Lymphozyten und Plasmazellen) in das Endometrium und die Uterushöhle (Lewis 1997, Bondurant 1999, Sheldon 2004, Sheldon und Dobson 2004). Klinisch äußert sich diese Form der Erkrankung durch einen vergrößerten Uterus, purulenten Ausfluss ($> 50\%$ eitriges Exsudat) 21 Tage nach der Kalbung oder mukopurulenten Ausfluss (50% Eiter und 50% Mukus im Exsudat) nach dem 26. Tag post partum (LeBlanc et al. 2002b).

Aus der klinischen Form der Endometritis kann sich eine chronische Entzündung entwickeln. Dabei wird das funktionelle Endometrium durch Narbengewebe ersetzt. Es kommt zu periglandulärer Fibrose, zystischer Degeneration und Atrophie der uterinen Drüsen (Lewis 1997).

2.1.3.3 Die Pyometra

Die Pyometra tritt nach der ersten Ovulation auf und ist assoziiert mit einem funktionellen Corpus luteum (C.I.), welches persistiert (Lewis 1997, Bondurant 1999, Sheldon 2004, Sheldon und Dobson 2004). Sie ist definiert durch eine Akkumulierung purulenten Materials im Uteruslumen bei gleichzeitig geschlossener Zervix und einer damit verbundenen Vergrößerung des Organs. Mittels Sonographie sind sowohl die Eiteransammlung (echodichtes Fluid) wie auch das C.I. und die Dehnung des Uterus sichtbar.

2.1.3.4 Die subklinische Endometritis

Unter einer subklinischen Endometritis versteht man solche Entzündungsformen der Gebärmutter, die nur anhand einer zytologischen Untersuchung diagnostizierbar sind (Gilbert et al. 1998). Zur Probengewinnung dient entweder eine Uterusspülprobe oder die Cytobrush-Methode (Kasimanickam et al. 2004). Von einer subklinischen Endometritis spricht man, wenn am 21. bis 33. Tag p.p. mehr als 18 % neutrophile Granulozyten oder am 34. bis 47. Tag p.p. mehr als 10 % neutrophile Granulozyten in einer Spülprobe vorhanden sind bei gleichzeitiger Abwesenheit von Symptomen der klinischen Endometritis (Sheldon et al. 2006). Die subklinische Endometritis verursacht eine deutliche Senkung der Reproduktionsleistung (Kasimanickam et al. 2004, Sheldon et al. 2009).

2.1.4 Ätiologie und Pathogenese puerperaler Gebärmutterentzündungen

Versagt der physiologische Selbstreinigungsprozess des Uterus kommt es zur Infektion und lokaler Entzündung des Organs, welche in chronische oder systemische Erkrankungen übergehen können. Der Zeitpunkt der Infektion deckt sich mit dem Zeitraum der Kalbung (Mateus et al. 2002b, Williams et al. 2005). Dies liegt daran, dass die Geburtswege weit offen stehen und Mikroorganismen aus der Umgebung, von der Tierhaut oder aus den Fäkalien somit ungehindert in den Uterus aufsteigen können (Földi et al. 2006).

Ein breites Spektrum an Krankheitserregern ist in der Lage Endometritiden hervorzurufen. In den meisten Fällen handelt es sich um unspezifische bakterielle Infektionen (Lewis 1997, LeBlanc et al. 2002a, Sheldon et al. 2002, Földi et al. 2006). Der Keim der Initialbesiedelung ist meistens unbekannt (Lewis 1997). Die am häufigsten beteiligten Keime sind die gramnegativen Bakterien *Arcanobacterium pyogenes*, *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida* und *Prevotellen*. Die bedeutendsten grampositiven Erreger sind

Staphylokokken, Streptokokken sowie Bazillen. Auch anaerobe Spezies wie *Fusobacterium necrophorum*, Clostridien und *Bacteroides* sind Erreger von Gebärmutterentzündungen.

2.1.5 Risikofaktoren

Es existieren diverse Fallkontrollstudien und Literaturübersichten, die den Stand der Forschung bezüglich Risikofaktoren für Gebärmutterentzündungen wiedergeben. In der Fallkontrollstudie von Bell und Roberts (2007) wurden 402 Fälle von klinischen Endometritiden und Metritiden untersucht und die prädisponierenden Faktoren evaluiert. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass diese Erkrankungen assoziiert sind mit den Faktoren Geburtshilfe, v.a. wenn diese bei Erstkalbinnen eingesetzt wird, Retentio secundarium, Zwillingsgeburten sowie verkürzter Trächtigkeitsdauer.

Die Retention fetaler Fruchthüllen bildet den wichtigsten Risikofaktor für Metritis und Endometritis (Correa et al. 1990, LeBlanc 2008, Sheldon et al. 2008, Gautam et al. 2010). Durch den Verbleib der Nachgeburt im Uterus entstehen optimale Bedingungen für bakterielles Wachstum (LeBlanc 2008, Gautam et al. 2010). Außerdem erhöht die Retentio secundarium das Risiko an Ketose oder Labmagenverlagerung zu erkranken, die wiederum als Risikofaktoren für die Entstehung uteriner Infektionen gelten.

Auch Milchfieber steht in engem Zusammenhang mit dem Auftreten von klinischen Endometritiden. Whiteford und Sheldon (2005) konnten zeigen, dass Kühe, die eine Hypokalzämie mit nachfolgendem Festliegen entwickeln, eher an klinischer Endometritis erkranken. Aber nicht die aufgrund des Kalziummangels fehlenden Uteruskontraktionen sind hierfür verantwortlich, sondern ein Kalziummangel im Intrazellularraum von Immunzellen, der sich negativ auf die Funktionstüchtigkeit der Zellen auswirkt (Kimura et al. 2006). Bei Kühen mit Endometritis konnte eine Funktionshemmung neutrophiler Granulozyten nachgewiesen werden (Cai et al. 1994). So zeigten Leukozyten von an Retentio secundarium erkrankten Kühen bereits zwei Wochen a.p. eine herabgesetzte Chemotaxis und Oxidative-Burst-Aktivität (Gunnink 1984).

Der während und nach der Kalbung vorhandene Stress, der durch das Einsetzen der Laktation, die Umstellung der Fütterung, das Umstallen und auch durch die Kalbung selbst entsteht, wird ebenfalls zu den Risikofaktoren gezählt (Zerbe et al. 2005, Gautam et al. 2010). Das vom Kalb zur Induktion der Geburt freigesetzte Stresshormon Cortisol wirkt entzündungshemmend. Hohe Blutkonzentrationen bedingen durch ihre immunsuppressive Wirkung eine Erhöhung der Krankheitsanfälligkeit.

Auch die Jahreszeit, in der die Kalbung stattfindet, hat Auswirkungen auf das Entstehen von Uterusinfektionen (Földi et al. 2006, Gautam et al. 2010). Bei Kalbungen im Sommer wird vermutet, dass der stärkere Hitzestress sich vermehrt negativ auf den Blutfluss der Gebärmutter auswirkt. Dies führt dazu, dass weniger Leukozyten aus der Peripherie in das Endometrium gelangen und somit dort nicht für die Abwehr von Infektionen zur Verfügung stehen. In Tabelle 1 sind weitere Risikofaktoren, die in der Literatur genannt werden, aufgeführt.

Tabelle 1: Risikofaktoren für uterine Entzündungen

Risikofaktoren	Autoren
Retentio secundarium	Correa et al (1993); Bruun et al. (2002), Sheldon und Dobson (2004), Bell und Roberts (2007), LeBlanc (2008), Sheldon et al. (2008), Gautam et al. (2010)
Geburtshilfe	Correa et al (1993), Kaneene und Miller (1995), Bell und Roberts (2007), Gautam et al. (2010)
Zwillinge	Bell und Roberts (2007), Sheldon et al (2008)
Dystokie	Földi et al. (2006), Sheldon et al. (2008)
Abort / Totgeburt	Correa et al. (1993), Kaneene und Miller (1995), Gröhn und Rajala-Schultz (2000)
Stress	Gautam et al. (2010), Zerbe (2005)
induzierte Geburt	Correa et al. (1993), Gröhn und Rajala-Schultz (2000)
Urovagina	Gautam et al. (2010)
metabolische Störungen	Kaneene und Miller (1995), Kim und Kang (2003), LeBlanc (2008)
geringe TM-Aufnahme	Urton et al. (2005)
Ovarzysten	Kaneene und Miller (1995)
linksseitige Labmagenverlagerung	Kaneene und Miller (1995)
Saison der Kalbung	Földi et al. (2006), Gautam et al. (2010)
Erstkalbung	Bell und Roberts (2007)
verkürzte Trächtigkeitsdauer	Bell und Roberts (2007)
Umgebungshygiene	Földi et al. (2006) Sheldon et al. (2008)
Herdengröße	Földi et al. (2006), Gautam et al. (2010)
Anzahl der Kalbungen	Földi et al. (2006)
verspätete Involution der Gebärmutter	Gautam et al. (2010)
Fütterung	Sheldon et al. (2008)
erhöhtes Alter	Correa et al. (1993), Gröhn und Rajala-Schultz (2000)
fehlender Weidegang	Földi et al. (2006)

2.1.6 Häufigkeiten uteriner Erkrankungen

In der vorhandenen Literatur wird die Häufigkeit uteriner Erkrankungen in großem Umfang behandelt. Mit dem Voranschreiten der Zeit nach der Kalbung kommt es zu einer Abnahme der Häufigkeit (Sheldon et al. 2002, Williams et al. 2005). In Tabelle 2 werden die Häufigkeiten uteriner Erkrankungen (Prävalenzen und Inzidenzen) aus der Literatur dargestellt. Auffällig ist die starke Streuung der Werte, die sich unter anderem dadurch erklären lässt, dass in den einzelnen Studien verschiedene diagnostische Methoden, unterschiedliche Definitionen und Klassifikationen der Infektionen sowie verschiedene Untersuchungszeitpunkte verwendet wurden (Lewis 1997, Urton et al. 2005, Földi et al. 2006, Azawi 2008). Somit sind auch die angegebenen Medianwerte oft wenig aussagekräftig (Lewis 1997). Ein direkter Vergleich der einzelnen Häufigkeiten ist folglich nicht möglich. Trotz aller Einschränkungen ist ein Trend zur Zunahme dieser Erkrankungen zu verzeichnen.

Tabelle 2: Häufigkeiten uteriner Erkrankungen

Autor (Erscheinungsjahr)	Entzündungsform	Häufigkeiten in %
Lewis et al. (1997)	alle Formen uteriner Entzündungen	Bis zu 40 % bis 40. Tag p.p. diagnostiziert
Kelton et al. (1998)	Endometritis	Inzidenz 10,1 % (Median), Herdenvarianz 2,2 - 37,3 %,
Drillich et al. (2001)	Metritis	Inzidenz 18,5 %
Sheldon et al. (2002)	Klinische Endometritis	Inzidenz 16,9 %
Bruun et al. (2002)	Metritis	Prävalenz 0,2 - 37 % in untersuchter Literatur, in eigener Studie Prävalenz 0,7 % (Median), Herdenvarianz 1 - 21 %
	Endometritis	Prävalenz 6,25 %
Kim und Kang (2003)	Endometritis	Prävalenz 47,6 %
Kasimanickam et al. (2004)	Subklinische Endometritis	Prävalenz 41 - 45 %, 20 - 47 Tage p.p.
Williams et al. (2005)	Klinische Metritis	Inzidenz 25 - 40 %
	Klinische Endometritis	Inzidenz 20%
Gilbert et al. (2005)	Endometritis	Prävalenz 53 % (Median), Herdenvariation 37 - 74 %
Benzaquen et al. (2007)	Peripartale Metritis	Inzidenz 21 %
	Klinische Endometritis	Inzidenz 24 %
LeBlanc (2008)	Klinische Endometritis	Prävalenz 17 % (Median), Herdenvarianz 5 - 26 %
Gautam et al. (2010)	Endometritis	Prävalenz Tag 15 - 20 p.p. 44,9 %
		Prävalenz Tag 21 - 28 p.p. 25,4 %
		Prävalenz Tag 29 - 60 p.p. 14,7 %

2.1.7 Folgen uteriner Entzündungen

2.1.7.1 Folgen für das Einzeltier

In zahlreichen Veröffentlichungen wurden uterine Erkrankungen als eine der Hauptursachen für schlechte Reproduktionsleistung und somit für Sub- und Infertilität angeführt. Beobachtet wurde dies vor allem in der fortschreitenden Verschlechterung der Kennzahlen für Fertilität in Milchviehherden (Formigoni und Trevisi 2003). Dazu zählen insbesondere sinkende Konzeptionsraten (Sheldon et al. 2006, Bell und Roberts 2007, Sheldon et al. 2008, Gautam et al. 2010), verlängerte Zwischenkalbezeiten (Földi et al. 2006, Chapwanya 2008), verringerte Erstbesamungsraten (Chapwanya 2008) und der damit verbundene Anstieg der Anzahl der Besamungen (LeBlanc et al. 2002b), verlängerte Intervalle zwischen Kalbung und erster Besamung (Földi et al. 2006, Sheldon et al. 2006, Bell und Roberts 2007, Sheldon et al. 2008) sowie zwischen Kalbung und Konzeption (Sheldon et al. 2006, Sheldon et al. 2008).

Nach der Auswertung von Krankheitsdaten von 1865 Kühen konnte LeBlanc (2002) zeigen, dass es bei Tieren, die eine Endometritis entwickelten, zu einer Senkung der Trächtigkeitsrate um 27% und zu einem Anstieg der durchschnittlichen Zeit zwischen Kalbung und erneuter Gravidität um 32 Tage kam. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Sheldon et al. (2008).

Eine der wichtigsten Funktionsstörungen, die zu Subfertilität führen, ist die Unterbrechung der Ovarfunktion (Sheldon und Dobson 2004, de Kruif und Leroy 2008). Mikroorganismen und auch Moleküle, die durch pathogene Keime freigesetzt werden, sind in der Lage, die endokrine Funktion des weiblichen Reproduktionstraktes zu unterbrechen (Sheldon et al. 2002). Endotoxine (z.B. Lipopolysaccharide der *E. coli*) können die Sekretion des Gonadotropin-Releasing-Hormons (GnRH) im Hypothalamus unterdrücken, die pulsatile Sekretion des luteinisierenden Hormons (LH) aus dem Hypophysenvorderlappen senken und die Reaktionsantwort der Hypophyse auf exo- oder endogenes GnRH vermindern (Sheldon 2004). Weiterhin kann die Ovarfunktion generell durch starke bakterielle Kontaminationen des Uterus gestört werden. So zeigten Sheldon et al. (2002), dass der erste dominante Follikel nach einer Kalbung bei Tieren, die zuvor an einer Infektion der Gebärmutter litten, sowohl eine niedrigere Wachstumsrate als auch eine niedrigere Östradiolsekretion aufwies.

Auch Schäden am Uterus, die z.B. durch Schweregeburten verursacht wurden, können eine Unterbrechung des luteolytischen Mechanismus (Opsomer et al. 2000) und somit eine Verzögerung der ersten Ovulation bewirken. Im Rahmen uteriner Infektionen kommt es nicht selten zu einer Verzögerung der Involution (Lewis 1997, Opsomer et al. 2000, Sheldon et al.

2006). So stellten Del Vecchio et al. (1994) bei gynäkologischen Untersuchungen bei Tieren mit uterinen Infektionen im Vergleich zu gesunden Tieren eine verlangsamte Involution fest. Eine verzögerte Regeneration des Endometriums ist nachfolgend mit einer späteren Wiederaufnahme des normalen Zyklus verbunden (Földi et al. 2006), was sich z.B. in einem geringeren Durchmesser der Follikel von uteruskranken Tieren zeigt (Peter und Bosu 1988).

Eine weitere Folge uteriner Erkrankungen ist die Zunahme von Aborten und embryonaler Mortalität (Formigoni und Trevisi 2003, de Kruif und Leroy 2008). Durch die Kalbung bedingte Schäden am Endometrium und nachfolgende Entzündungen der Innenauskleidung sowie der tieferen Schichten des Uterus bewirken eine verzögerte Involution (Sheldon et al. 2008). Für eine erfolgreiche Einnistung und gute Ernährung des Embryos bedarf es jedoch einer intakten Gebärmutter.

Das Erkrankungsgeschehen uteriner Infektionen hat auch Auswirkungen auf den Energiehaushalt des einzelnen Tieres. Einige Autoren konnten bei uteruskranken Tieren im Vergleich zu gesunden eine deutlich niedrigere Futteraufnahmekapazität feststellen (Urton et al. 2005, Bell und Roberts 2007, Chapwanya 2008). Diese geringere Futteraufnahme bewirkt, dass solche Tiere eine stärker ausgeprägte negative Energiebilanz entwickeln. Energiedefizite haben bei Kühen zur Folge, dass es zu einer Senkung oder gar Unterdrückung der pulsatischen Sekretion der Gonadotropine kommt. Dies führt zu ovariellen Dysfunktionen und Wachstumshemmung der Follikel (Formigoni und Trevisi 2003). Sinkt die Futteraufnahme, ist das Tier gezwungen eigene Körperreserven zu mobilisieren, was sich in einer Abnahme des Body Condition Score (BCS) zeigt. Garnsworthy und Webb (1999) konnten eine Reduktion der Konzeptionsrate bei solchen Tieren feststellen, die mehr als 1,5 BCS-Einheiten zwischen der Kalbung und der ersten Besamung verloren. Diese Resultate zeigen, dass bei bestehendem Energiedefizit die erste Ovulation p.p. später auftritt, da sowohl die Sekretion von GnRH wie auch der Gonadotropine luteinisierendes Hormon (LH) und follikelstimulierendes Hormon (FSH) gehemmt wird.

Stress, den eine bestehende Krankheit verursacht, wirkt sich ebenfalls direkt auf die Fruchtbarkeit aus (Formigoni und Trevisi 2003). Akuter und chronischer Stress vermindern die pulsatischen Muster von GnRH und LH und verursachen so Veränderungen der Funktionen der Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse (Dobson et al. 2001).

2.1.7.2 Ökonomische Folgen von Gebärmutterentzündungen

Krankheiten der Gebärmutter sind weltweit eine der kostenintensivsten Störungen beim Rind (Sheldon 2004, Lee und Kim 2007, Sheldon et al. 2008). So werden Tiere, die an Gebärmutterinfektionen gelitten haben, aufgrund ihrer Fehlleistungen in der Reproduktion vermehrt aus den Betrieben genommen und zumeist der Schlachtung zugeführt (Lewis 1997, Sheldon et al. 2006). LeBlanc (2002) kam zu dem Ergebnis, dass bei Kühen mit Endometritis ein um den Faktor 1,7 erhöhtes Risiko für die Ausmerzung besteht. Bell und Roberts (2007) stellten fest, dass es bei 44 % der erkrankten Tiere zum Abgang aus dem Milchviehbetrieb kommt. Sinkende Milchleistung und sinkender Proteingehalt in der Milch tragen ebenfalls zu den wirtschaftlichen Verlusten bei (Urton et al. 2005, Bell und Roberts 2007, Chapwanya 2008).

Die finanziellen Verluste lassen sich in direkte und indirekte Kosten einteilen. Unter direkten Kosten versteht man Kosten, die sich aus der tierärztlichen Behandlung (Sheldon und Dobson 2004, LeBlanc 2008, Sheldon et al. 2008), Abgängen oder Abschaffung von Tieren (Lewis 1997, de Kruif und Leroy 2008, LeBlanc 2008) sowie Milchverlusten aufgrund von Wartezeiten der Therapie ergeben (Sheldon und Dobson 2004, Sheldon et al. 2008).

Zu den indirekten Verlusten zählen Kosten, die durch weniger Kälberverkäufe (de Kruif und Leroy 2008), zusätzliche Besamungskosten (LeBlanc et al. 2002b), den Ersatz von Tieren (de Kruif und Leroy 2008), In- und Subfertilität (Sheldon und Dobson 2004, LeBlanc 2008, Sheldon et al. 2008), Absinken der Milchleistung (LeBlanc 2008) oder erhöhten Arbeitsaufwand, z.B. durch separates Melken (Chapwanya 2008), entstehen.

2.2 Die Bedeutung der Fettsäuren im Metabolismus der Milchkuh

2.2.1 Überblick über grundlegende Aspekte des Fettsäurestoffwechsels

2.2.1.1 Nomenklatur der Fettsäuren

Bei der Gruppe der Fettsäuren handelt es sich um aliphatische Monocarbonsäuren. Es gibt kurzkettige (1 bis 7 C-Atome), mittelkettige (8 bis 12 C-Atome) und langkettige Fettsäuren (mehr als 12 C-Atome). Die meisten und wichtigsten Fettsäuren im Organismus der Säugetiere zählen zwischen 14 und 22 C-Atomen und liegen in cis-Konfiguration vor. Man unterscheidet je nach Vorkommen und Anzahl der Doppelbindungen zwischen gesättigten (Saturated Fatty Acids, SFA), einfach ungesättigten (Monounsaturated Fatty Acids, MUFA) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFA).

Unter einer Fettsäure versteht man eine Kohlenwasserstoffkette, die an einem Ende eine hydrophobe Methylgruppe (-CH₃) und am anderen Ende eine hydrophile Carboxylgruppe (-COOH) trägt. Zusätzlich zu den systemischen Namen hat sich in der Literatur eine Abkürzungsform für Fettsäuren durchgesetzt. Die Bezeichnung erfolgt hierbei nach der Anzahl der Kohlenstoffatome und der Doppelbindungen. Außerdem wird die Position der ersten Doppelbindung vom Methylende aus angegeben. So wird beispielsweise die Octadecaensäure mit C18:1n9 abgekürzt. Ungesättigte Fettsäuren werden je nach Lage ihrer ersten Doppelbindung den Omega-3-, Omega-6- und Omega-9-Fettsäuren zugeordnet (Löffler 2002, Petit 2002, Ambrose und Kastelic 2003, Morimoto et al. 2005, Nguyen et al. 2008, Melendez et al. 2009). Eine Übersicht über die bedeutendsten Fettsäuren und deren Nomenklatur befindet sich im Anhang (Tabelle 7).

2.2.1.2 Vorkommen, Aufnahme und Speicherung von Fettsäuren

Fettsäuren treten im Organismus hauptsächlich in Form von Estern auf (Triacylglycerine, Cholesterolester, Sphingolipide oder Phosphoglycerine). Freie, also unveresterte, Fettsäuren liegen nur selten und in sehr geringen Konzentrationen im Organismus vor, zumal sie im Blut meistens an Albumin gebunden sind (Löffler 2002).

Fettsäuren sind Grundlage für die Biosynthese einer Vielzahl von biologisch aktiven Substanzen wie z.B. Hormonen. Außerdem sind sie Bestandteile vieler pflanzlicher und tierischer Produkte. Typische tierische Fettsäuren sind unverzweigt, geradzahlig und bestehen aus 14 bis 22 Kohlenstoffatomen (Urich 1990). Es treten dabei sowohl gesättigte als auch unge-

sättigte Formen auf. Am häufigsten kommen Fettsäuren mit 16 oder 18 C-Atomen, vor allem die Hexadecansäure (C16:0) und die Octadecaensäure (C18:1n9), vor (Urich 1990).

Des Weiteren unterscheidet man zwischen essentiellen und nicht-essentiellen Fettsäuren. Nicht-essentielle werden im Körper selbst synthetisiert (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Ambrose und Kastelic 2003, Jones et al. 2008). Essentielle Fettsäuren hingegen, wie z.B. Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren, können dem Körper nur über die Nahrung zugeführt werden. Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die zumeist als metabolische Vorläufermoleküle dienen, können im Körper nicht selbst synthetisiert werden (Roche 1999). Sphingo- und Phospholipide werden aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften zum Aufbau von Lipiddoppelschichten verwendet und sind somit wichtige Bestandteile sämtlicher Zellmembranen. Cholesterolester sind ebenso essentielle Bestandteile der Zellmembranen. Aus ihnen werden Steroidhormone und Gallensäuren synthetisiert. Viele mehrfach ungesättigte Fettsäuren beeinflussen die Struktur oder die physikalischen Eigenschaften von Membrandomänen. Sie modulieren Enzymaktivitäten, Transporterfunktionen und Membranrezeptoren (Zamaria 2004). Darüber hinaus sind sie involviert in die Eicosanoidproduktion (Prostaglandine, Prostacycline, Thromboxane, Leukotriene), Signaltransduktion und Aktivierung nukleärer Transkriptionsfaktoren (Spector 1999).

Fettsäuren sind die Hauptenergiequelle für die meisten Gewebe, v.a. wenn sich der Organismus in einer negativen Energiebilanz befindet (Vernon 2005). Die umfangreichsten Energiespeicher im Organismus sind die Triacylglycerine (TAG) (Löffler 2002). Das Depotfett von Wiederkäuern weist einen hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren auf (Urich 1990).

2.2.1.3 Die Biosynthese der Fettsäuren

Fettsäuren dienen im Organismus der Energiegewinnung, werden im Fettgewebe gespeichert und im Rahmen der Laktation zur Milchfettsynthese herangezogen. Die wichtigsten Organe des Fettstoffwechsels sind das Fettgewebe, die Leber und während der Laktation das Euter (Urich 1990, Vernon 2005, Nguyen et al. 2008). All diese Gewebe sind in der Lage, Fettsäuren de novo zu bilden und diese zu Triacylglyceriden zu verestern.

Fette aus pflanzlichen Futterstoffen werden im Pansen durch mikrobielle Lipasen hydrolysiert (Ambrose und Kastelic 2003). Ungesättigte Fettsäuren werden anschließend durch Mikroorganismen biohydrogeniert (Ward et al. 1964). Die im Pansen befindlichen Mikroorganismen können langkettige Fettsäuren auch selbst zum Strukturaufbau nutzen oder aber daraus neue Fettsäuren synthetisieren. Diese mikrobiellen Aktivitäten in den Vormägen

führen dazu, dass die absorbierten Fettsäuren stärker gesättigt sind als solche, die mit der eigentlichen Nahrung aufgenommen wurden. Sind in der aufgenommenen Ration jedoch zu viele ungesättigte Fette enthalten, kann sich dies negativ auf das mikrobielle Wachstum auswirken (Hocquette und Bauchart 1999, Engelhardt und Breves 2000). Kurzkettige Fettsäuren gelangen durch einfache Diffusionsvorgänge über die Pansenwand in den Organismus (Noble 1979). Langkettige Fettsäuren werden im Dünndarm absorbiert und in Form von freien Fettsäuren v.a. in das Portalblut sezerniert (Bach et al. 1996). Die Absorption langkettiger Fettsäuren erfolgt durch die Epithelzellen des Dünndarms, wo eine erneute Veresterung zu Triacylglycerinen (TAG) erfolgt (Bauchart 1993), welche anschließend mittels Chylomikronen und Very Low Density Lipoprotein (VLDL) über die Lymphbahnen transportiert werden (Löffler 2002). Absorbiertes Acetat und Butyrat wird im Zitratzyklus in den Mitochondrien oxidiert und dient somit primär als Energiequelle (Hocquette und Bauchart 1999). Darüber hinaus stellt Acetat ein Substrat für die Lipogenese in den meisten Fettdepots dar (van Knegsel et al. 2007). Die Leber nutzt angefallenes Propionat für die Gluconeogenese (Hocquette und Bauchart 1999, van Knegsel et al. 2007). Die freien Fettsäuren werden in Form von Triglyceriden in der Leber und im Fettgewebe gespeichert und dienen bei Bedarf als Energiequelle.

Die Biosynthese von Fettsäuren aus Acetyl-CoA findet im Zytosol der meisten Zellen statt. Alle Reaktionen der Fettsäurebiosynthese werden durch Teilaktivitäten einzelner Domänen des Multienzymkomplexes Fettsäuresynthetase katalysiert. Malonyl-CoA, welches aus Acetyl-CoA durch Carboxylierung hergestellt wird, ist das eigentliche Substrat der wachsenden Fettsäurekette (Löffler 2002). Mit jedem Durchlaufen eines Zyklus wird die Fettsäurekette um zwei Kohlenstoffatome verlängert. Ist die Fettsäure lang genug, wird sie durch eine Hydrolase vom Enzymkomplex abgespalten. Ungeradzahlige Fettsäuren werden hingegen aus Propionyl-CoA synthetisiert. Einfach und mehrfach ungesättigte Fettsäuren entstehen durch Desaturierung und Kettenverlängerung. Desaturasen sind Enzyme, die für das Einführen der Doppelbindung zuständig sind, wodurch die Synthese der Eicosatetraensäure (C₂₀:4n₆) aus Octadecadiensäure (C₁₈:2n₆) erfolgt. Dabei wird Linoyl-CoA zweifach desaturiert und durchläuft eine Kettenverlängerung mit Malonyl-CoA. Auf diesem Weg lassen sich aus Omega-6-Fettsäuren verschiedene andere Fettsäuren dieser Untergruppe synthetisieren. Selbiges gilt für die Vertreter der Familie der Omega-3-Fettsäuren (Abbildung 1) (Urich 1990, Löffler 2002).

Durch das Einfügen einer Doppelbindung am C-Atom 9 können Säugetiere selbstständig aus gesättigten Fettsäuren einfach ungesättigte Fettsäuren wie z.B. Octadecadiensäure

(C18:1n9) und Hexadecadiensäure (C16:1) synthetisieren. Weitere Doppelbindungen können sie jedoch nicht generieren, da Säugetieren im Gegensatz zu pflanzlichen Organismen die notwendige Desaturase fehlt (Abayasekara und Wathes 1999, Morimoto et al. 2005).

Die essentiellen Fettsäuren der Omega-3- und Omega-6-Familien werden hingegen nur mit der Nahrung aufgenommen (Cheng et al. 2001). Zudem lassen sich Omega-3- nicht in Omega-6-Fettsäuren und umgekehrt umwandeln (Urich 1990, Loeffler et al. 1999, Löffler 2002). Allerdings ist eine Umwandlung von Fettsäuren, die der selben Omega-Familie angehören, über Elongation und Desaturierung möglich (Abayasekara und Wathes 1999, Cheng et al. 2001, Ambrose und Kastelic 2003, Zamaria 2004). Dies bedeutet, dass Octadecatriensäure (C18:3n3) Ausgangspunkt für die Synthese der Fettsäuren Eicosapentaensäure (C20:5n3), Docosapentaensäure (C22:5n3) und Docosahexaensäure (C22:6n3) ist, sowie Octadecadiensäure (C18:2n6) für die Omega-6-Fettsäure Eicosatetraensäure (C20:4n6) (Abbildung 1) (Abayasekara und Wathes 1999, Arab 2003). Durch die Konkurrenz der Omega-Fettsäuren um dieselben Enzyme, forciert eine vermehrte Aufnahme von Octadecadiensäure die Bildung von Eicosatetraensäure durch kompetitive Hemmung der Desaturierung der Octadecatriensäure und umgekehrt (Urich 1990, Loeffler et al. 1999, Löffler 2002, Zamaria 2004).

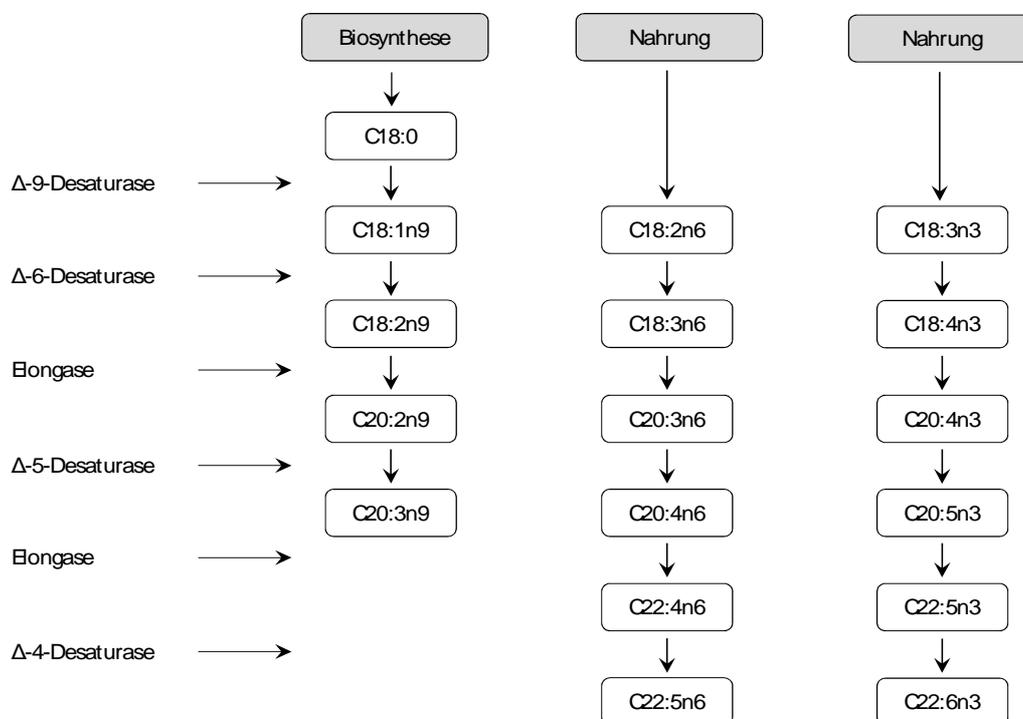


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Umwandlungsprozesse einzelner Fettsäuren in andere durch Desaturierung und Elongation, nach Abayasekara und Wathes (1999)

2.2.1.4 Fettsäuren als Membranbestandteile

Essentielle Fettsäuren sind die wichtigsten Bausteine der Membranlipide (Nguyen et al. 2008). Jede Zelle eines lebenden Organismus ist von einer Plasmamembran umgeben, die das Innere der Zelle zur Außenwelt hin abgrenzt. Die Grundstruktur jeder Zellmembran besteht aus einer Lipiddoppelschicht, die aufgrund der amphiphilen Eigenschaften der Lipide zustande kommt. In diese Lipiddoppelschicht sind Membranporen und -kanäle sowie Transportproteine eingelagert. Die wichtigsten Lipide der Membranen sind Phospho- und Sphingolipide. Die Zusammensetzung der Membranen beeinflusst wesentlich die Fluidität dieser Struktur, wobei ungesättigten Fettsäuren die Eigenschaft zugesprochen wird, diese zu erhöhen (Urich 1990, Löffler 2002, Douglas et al. 2007). Membranen sind somit ein Wirkort von Fettsäuren, an dem diese in der Lage sind, Stoffwechselwege und Funktionen von Zellen und somit auch von Organen positiv wie negativ zu beeinflussen (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000).

2.2.1.5 Die Eicosanoidsynthese

Bei Eicosanoiden handelt es sich um Substanzen, die durch para- oder autokrine Wirkung viele biologisch wichtige Prozesse, wie Entzündungen oder Homöostase, beeinflussen (Gil 2002). Diese Gewebshormone leiten sich von den sogenannten Eicosanfettsäuren, die aus 20 C-Atomen bestehen, ab (Abayasekara und Wathes 1999, Staples et al. 2008). Zu den Eicosanoiden zählen Prostaglandine (PG), Leukotriene (LT), Thromboxane (TX) und Lipoxine (LX). Zu einer vermehrten Gewebssynthese kommt es nach Reizung bzw. Schädigung der Zellmembran (Engelhardt und Breves 2000). Je nachdem, welche Fettsäure die Ausgangssubstanz für die Prostaglandinsynthese ist, werden drei Hauptgruppen von Prostaglandinen unterschieden. Serie-1 Prostaglandine leiten sich von der Eicosatriensäure (C₂₀:3n₆), Serie-2 Prostaglandine von der Eicosatetraensäure (C₂₀:4n₆) und Serie-3 Prostaglandine von Eicosapentaensäure (C₂₀:5n₃) ab (Abbildung 2).

Ein wichtiges Substrat der Eicosanoidsynthese ist die Eicosatetraensäure. Diese muss, bevor sie für die eigentlichen Synthese zur Verfügung steht, durch eine spezifische Phospholipase A₂ aus den Membranphospholipiden abgespalten werden (Engelhardt und Breves 2000, Gil 2002). Durch die Prostaglandinsynthase, auch Prostaglandinendoperoxidase-synthase genannt, wird Prostaglandin H₂ gebildet. Diese ist die Ausgangssubstanz der Prostaglandine der Serie 2 (Petit 2002, Arab 2003, Moussavi et al. 2007, Staples et al. 2008). Die Prostaglandine der Serie 2 wirken proinflammatorisch, proaggregativ, vasokonstriktorisch und immunsuppressiv (Zamaria 2004). Prostaglandine regen in der Nebenniere, der Schild-

drüse, der Nebenschilddrüse sowie im Ovar die Sekretion an. Prostaglandine der Serie E senken den Blutdruck, und fungieren als wichtige Mediatorstoffe bei der Auslösung von Fieber und Schmerz (Engelhardt und Breves 2000) sowie der Regulation der Immunantwort (Urich 1990). Prostaglandine, deren Hauptsyntheseort das Endometrium ist (Thatcher et al. 2004), sind wichtig für Ovulation, sichtbare Anzeichen des Östrus und erhöhen den Blutfluss zu den Ovarien, um das Follikelwachstum zu fördern (Jones et al. 2008). $\text{PGF}_{2\alpha}$ bewirkt die Regression des C.I. (Jones et al. 2008). PGE_2 wirkt bei der Initiierung der Ovulation mit (Jones et al. 2008). Laut Mattos et al. (2003) sind die Eicosapentaensäure und die Docosahexaensäure potente Inhibitoren der Produktion von $\text{PGF}_{2\alpha}$. Nach der Gabe von Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure über die Nahrung kam es durch eine herabgesetzte Verfügbarkeit an Eicosatetraensäure zu einer Hemmung der $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese (Cheng et al. 2001). PGE_2 und $\text{PGF}_{2\alpha}$ sind durch ihre vasodilatatorische Wirkung an der Formierung von Ödemen beteiligt (Gil 2002). Das vasokonstriktorisch und proaggregativ wirkende Thromboxan A_2 wird mittels Thromboxansynthetase aus der Eicosatetraensäure hergestellt (Gil 2002). Durch das Enzym Lipooxygenase (LOX) lassen sich die Leukotriene ebenfalls aus der Eicosatetraensäure ableiten (Arab 2003). Der Lipooxygenaseweg ist in neutrophilen Granulozyten besonders aktiv. Eicosatetraensäure wird zu 5-Hydroxyeicosatetraensäure (5-HETE) oxidiert, welches stark anziehend auf andere Leukozyten wirkt. Aus 5-HETE wird mittels einer Dehydrogenase und einer Hydrolase das Leukotrien B_4 , welches die Neutrophilenaggregation induziert, synthetisiert. Leukotriene, die sich von der Eicosapentaensäure ableiten, zeigen eine schwächere Wirkung (Gil 2002).

Auch die Omega-3-Fettsäuren sind Ausgangsstoffe der Eicosanoidsynthese. Aus Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure leiten sich z.B. die Prostaglandine der Serie 3 ab (Abayasekara und Wathes 1999, Petit 2002), denen eine antiinflammatorische, vasodilatatorische und immunmodulierende Wirkung zugeschrieben wird (Zamaria 2004). Aus der Eicosatriensäure werden u.a. die Serie-1 Prostaglandine synthetisiert (Abayasekara und Wathes 1999). Generell gilt, dass Prostaglandine der Serie 1 und 3 weniger biologisch wirksam sind. Allerdings gibt es auch Ausnahmen. So wirkt beispielsweise das Thromboxan A_3 schwächer proaggregativ als das Thromboxan A_2 , aber PGI_3 ist in seiner antiaggregativen Wirkung genauso potent wie PGI_2 (Abayasekara und Wathes 1999).

Werden in die Phospholipide der Zellmembranen vermehrt Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure eingebaut, vermindert sich die Synthese der Eicosanoide aus Eicosatetraensäure. Dies liegt daran, dass diese Substrate jeweils um dasselbe Enzymsystem konkurrieren (Mattos et al. 2000, Arab 2003). Erhöht sich also demnach die Verfügbarkeit an

Eicosapentaensäure in den Membranphospholipiden, geschieht dies zu Ungunsten der Eicosatetraensäure und es werden vermehrt Prostaglandine der Serie 3 produziert (Petit 2002).

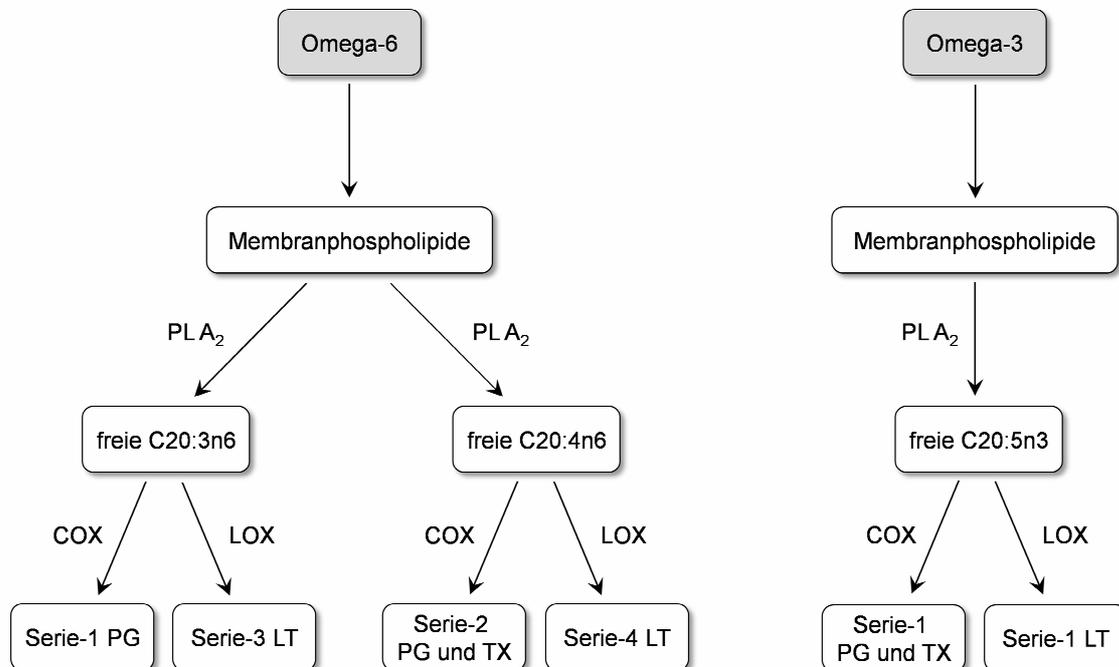


Abbildung 2: Darstellung der Synthesewege der Eicosanoide aus Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren (LOX= Lipooxygenase, COX= Cyclooxygenase, PLA₂= Phospholipase A₂, LT= Leukotriene, PG= Prostaglandine, TX= Thromboxane).

2.2.1.6 Omega-Fettsäuren

Im Wesentlichen unterscheidet man drei verschiedene Fettsäurefamilien: Omega-3-, Omega-6- und Omega-9-Fettsäuren. Die Synthese von Omega-3-Fettsäuren erfolgt aus Octadecatriensäure (C18:3n3), die der Omega-6-Fettsäuren hingegen aus Octadecadiensäure (C18:2n6). Fettsäuren der Omega-9-Familie entstehen aus Octadecaensäure (C18:1n9) (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000). Die einzelnen Fettsäurefamilien sind nicht ineinander umwandelbar (Thatcher et al. 2004). In der Humanmedizin wird Omega-3-Fettsäuren eine gesundheitsförderliche Wirkung nachgesagt. So sollen sie z.B. vor kardiovaskulären, entzündlichen oder autoimmunen Erkrankungen schützen (Bechoua et al. 1999). Für die menschliche Ernährung wird ein Verhältnis von 5:1 empfohlen (Singh et al. 1996, DGE 2000). Allerdings wird heutzutage v.a. in den westlichen Ländern dieses Verhältnis deutlich überschritten (20:1 bis 30:1) (Singh et al. 1996, Simopoulos 2008).

Calder et al. (1995) ordnen Omega-3-Fettsäuren eine immunmodulatorische Wirkung zu, wobei dies jedoch dosisabhängig ist. Während zu hohe Gaben die Anfälligkeit der Zellen aufgrund der vielen Doppelbindungen der Fettsäuren für Lipidoxidation erhöhen, schützen geringe Dosen an Omega-3-Fettsäuren paradoxerweise Zellen vor peroxidativem Stress (Calzada et al. 1992). Staples et al. (2008) vermuten, dass die antiinflammatorische Wirkung von Omega-3-Fettsäuren mit einem hemmenden Effekt auf die Produktion proinflammatorischer Zytokine assoziiert ist. Omega-3-Fettsäuren sind in der Lage, die Lymphozytenproliferation in vivo wie in vitro zu senken. Jefferey et al. (1996) verglichen in einem Fütterungsversuch bei männlichen Ratten die Wirkung omega-6-reicher, omega-3-reicher und gemischter Futtermischungen und konnten zeigen, dass α -Octadecatriensäure in der Lage ist, die Lymphozytenfunktion dieser Tiere zu senken. Auch Bechoua et al. (1999) bestätigten eine Funktionsminderung von Lymphozyten durch Omega-3-Fettsäuren. Nach der Gabe von Nahrung mit erhöhten Anteilen an Eicosapentaensäure- und Docosahexaensäure über einen Zeitraum von sechs Wochen zeigte sich bei menschlichen Probanden im Vergleich zu einer Kontrollgruppe eine deutliche Senkung der Proliferation der Lymphozyten dieser Personen. Switzer et al. (2004) bestätigten die immunsuppressive und antiinflammatorische Wirkung der Omega-3-Fettsäuren. Außerdem bewirkten Omega-3-Fettsäuren eine Senkung der Chemotaxis und der Sekretion verschiedener Zytokine (Endres et al. 1989). In vitro zeigten Omega-3-Fettsäuren das Potential, die Entwicklung einer hepatischen Lipidose durch eine erhöhte Lipidoxidation und einen vermehrten Einbau von Fettsäuren in intrazelluläre Triglyceride zu senken (Mashek et al. 2002). Doch eine Zunahme der Konzentrationen der Omega-3-Fettsäuren in Geweben geht immer mit einer Verringerung der Omega-6-Fettsäurekonzentrationen einher. Diese veränderten Zusammensetzungen beeinflussen die Funktion der betroffenen Gewebe. Wird demnach die Octadecadiensäure in uterinem Gewebe durch Omega-3-Fettsäuren ersetzt, so scheint dies für die Verminderung der $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion aus Eicosatetraensäure im Uterus verantwortlich zu sein (Mattos et al. 2004).

Die Veränderung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren vermag spezifische Reproduktionsprozesse zu beeinflussen (Thatcher et al. 2004). Dies begründet sich darin, dass die Fettsäure Octadecadiensäure zu Eicosatetraensäure metabolisiert wird und diese Fettsäure wiederum ein direkter Vorgänger der Prostaglandinsynthese (Thatcher et al. 2004). Doch die Octadecadiensäure und Omega-3-Fettsäuren konkurrieren um dieselben Enzyme (Mattos et al. 2000, Arab 2003). Laut Mattos et al. (2002) ist eine Erhöhung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren im Futter assoziiert mit verringerter Reproduktionsfunktion.

2.2.1.7 Die Situation des Fettstoffwechsels im peripartalen Zeitraum

Beim Übergang von der Spätträchtigkeit in die Frühlaktation kommt es zu starken Veränderungen im Stoffwechsel der Milchkuh (Formigoni und Trevisi 2003, Drackley 2004). Auf der einen Seite sinkt kurz vor der Kalbung die Trockenmasseaufnahme (TM-Aufnahme). Auf der anderen Seite steigt die Nachfrage nach verfügbarer Energie, um den Bedarf durch Einsetzen der Laktation (Drackley 2004) und durch das starke Wachstum des Embryos (Bell 1995) zu decken. Aufgrund dieser Gegebenheiten ist die Kuh nicht in der Lage den Energiebedarf, der sich aus Erhaltungs- und Leistungsbedarf zusammensetzt (Overton 2001), durch die Futtermittelaufnahme zu decken (Bell 1995, Goff und Horst 1997, Drackley 1999, Overton 2002, Drackley 2004). Das Tier gelangt in eine negative Energiebilanz. Weiterhin erfolgt die Zunahme der TM-Aufnahme nach der Kalbung wesentlich langsamer als der Anstieg der Milchleistung (de Kruif et al. 2007). Dies bedeutet, dass der Höhepunkt der Laktationsleistung vor dem Maximum der TM-Aufnahme erreicht wird. Diesem Nährstoff- und Energie-defizit versucht der Organismus durch Mobilisierung von Körperreserven zu begegnen (Formigoni und Trevisi 2003, Drackley 2004, Adewuyi et al. 2005). Es kommt zur Mobilisierung von Fettsäuren aus dem Fettgewebe, was sich in der Zunahme der freien Fettsäuren im Blut widerspiegelt (Grummer 1993, Rukkwamsuk et al. 1999a, Vandehaar et al. 1999). Zwischen dem Ausmaß der negativen Energiebilanz und der Höhe der Konzentrationen freier Fettsäuren im Plasma besteht eine starke Korrelation (Leroy et al. 2005a). In Zeiten negativer Energiebilanz dienen die freien Fettsäuren als Hauptquelle der Energieversorgung (Drackley 1999, Lewis 2003). Nimmt die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum zu, werden diese verstärkt durch die Leber aufgenommen (Emery et al. 1992). Dort werden sie entweder zur Bildung von Triacylglycerinen (TAG) genutzt, komplett zu CO₂ oder partiell zu Ketonkörpern oxidiert (Drackley 2004).

Da Wiederkäuer nur eine geringe Fähigkeit zur Synthese und Sekretion von Very Low Density Lipoprotein (VLDL) besitzen (Goff und Horst 1997, Lewis 2003), ist der Export von TAG aus der Leber begrenzt (Eerdenburg und Adewuyi 2005). Bei starker Mobilisierung der freien Fettsäuren übersteigt die TAG-Synthese in der Leber die Menge der Ausschleusung von TAG mittels VLDL aus der Leber, wodurch es zur Akkumulation von TAG kommt (Vazquez-Anon et al. 1994, Drackley 2000, Eerdenburg und Adewuyi 2005). Bis zu einem gewissen Grad entwickelt jede Milchkuh p.p. eine negative Energiebilanz (Grummer 1995). Um die Stoffwechselsituation in der Transitperiode zu bewältigen, ist eine optimale Funktion der Leber obligat (Drackley 2004). Steigt aber der Grad der Fettinfiltration im Organ zu stark an, kommt es zu einer Funktionsbeeinträchtigung der Leber (Strang et al. 1998, Rukkwamsuk et al.

2000, Drackley 2004), was sich z.B. in einer verminderten Fähigkeit, Stickstoff zu Harnstoff umzuwandeln, zeigt (Strang et al. 1998). Weiterhin wird die Gluconeogenese gehemmt, wodurch die Blutglucosekonzentration und die Insulinsekretion abnehmen (Drackley 2004). Dieser Umstand bewirkt eine zusätzliche Stimulation der Lipolyse und erhöht die Aufnahme von Fettsäuren in die Leber (Grummer und Carroll 1991, Adewuyi et al. 2005). Das Tier entwickelt ein Lipomobilisationssyndrom und dem Stoffwechsel droht die Entgleisung. Die Entwicklung einer Ketose und der damit verbundenen Anstieg von β -Hydroxybutyrat im Blut sowie eine eingeschränkte Gluconeogenese gehören zu den Begleitsymptomen einer Fettleber (Drackley et al. 2001). In schweren Fällen kommt es zu einer fettigen Degeneration des Lebergewebes (Overton und Piepenbrink 1999, van Knegsel et al. 2007). Bei deutlich überkonditionierten Tieren konnte nach der Kalbung ein unphysiologisch hoher Anstieg der freien Fettsäuren im Blut beobachtet werden (Rukkwamsuk et al. 2000). Reid et al. (1983) beobachteten schon vor über 25 Jahren in einer Feldstudie, dass Kühe, die vor der Kalbung überkonditioniert waren und postpartal eine fettige Leberdegeneration entwickelten, vermehrt Fruchtbarkeitsprobleme aufwiesen. Tiere, die nach einer Kalbung an Endometritis erkrankten, zeigten im Vergleich zu gesunden Tieren kurz nach der Kalbung eine stärkere Erhöhung der Konzentration der freien Fettsäuren (Hammon et al. 2006).

2.2.1.8 Bedeutung und Verlauf der NEFA im peripartalen Zeitraum

Die Konzentration der freien Fettsäuren (NEFA) im Serum spiegelt die Intensität der Körperfettmobilisation wieder und korreliert mit der Stärke der negativen Energiebilanz (Drackley 2000, Leroy et al. 2005a). Der Anstieg der freien Fettsäuren dient als Indikator von Energiedefizitzuständen (Brickner et al. 2007) und ist oftmals assoziiert mit einer Erhöhung der Inzidenzen für Ketose, Labmagenverlagerung oder Retentio secundarium (Drackley 2000, Lacetera et al. 2005, LeBlanc et al. 2005). Melendez et al. (2009) stellen die These auf, dass erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren ursächlich für die peripartale Immunsuppression und somit ein Prädispositionsfaktor für die typischen Erkrankungen in der peripartalen Periode sind.

Während der Transitperiode kommt es in der Regel zu Veränderungen der Konzentration der freien Fettsäuren im Serum. Diese Konzentrationsveränderungen werden zum einen durch die sinkenden Trockenmasseaufnahme, zum anderen durch den Anstieg von Hormonen, die die Lipolyse stimulieren, verursacht (Vazquez-Anon et al. 1994). Generell kommt es um den Zeitpunkt der Kalbung herum zu einem Anstieg der Konzentration der freien Fettsäuren im Blut (Vazquez-Anon et al. 1994, Rukkwamsuk et al. 1999a). Befindet sich ein Tier in positiver

Energiebilanz liegen die Werte unter 200 $\mu\text{mol/l}$. Während der letzten Wochen vor der Kalbung steigt die Konzentration auf 200 bis 300 $\mu\text{mol/l}$ an. Zwei bis drei Wochen a.p. kommt es schlagartig zu einem starken Anstieg der Konzentrationen, und am Tag der Kalbung selbst werden Höchstwerte von 800 bis 1200 $\mu\text{mol/l}$ erreicht. Normalerweise sollten diese Werte nach der Geburt rasch absinken. Weisen Tiere allerdings am siebten Tag p.p. noch Werte über 700 $\mu\text{mol/l}$ auf, gilt dies als Indikator für eine schwere negative Energiebilanz (Drackley 2000). Nach drei Wochen sollten die Werte wieder ihre basale Ausgangskonzentration von $< 300 \mu\text{mol/l}$ erreicht haben (Vazquez-Anon et al. 1994, Drackley 2000). Vazquez-Anon et al. (1994) ermittelten im Plasma eine Maximalkonzentration der freien Fettsäuren von 1014 $\mu\text{mol/l}$. Nach Auswertung von Serumproben erhielten Leroy et al. (2005a) am 16. Tag p.p. Konzentrationen an freien Fettsäuren von 400 bis 1200 $\mu\text{mol/l}$. Am 44. Tag p.p. erreichten die Tiere wieder die basalen Ausgangswerte von 100 bis 300 $\mu\text{mol/l}$ wie sie vor der Kalbung auftraten.

Kaneene et al. (1997) konnten in ihrer epidemiologischen Studie zeigen, dass hohe Konzentrationen an freien Fettsäuren das Risiko, an Metritis oder Retentio secundarium zu erkranken, erhöhen. Die Periode dieser erhöhten Konzentrationen deckt sich mit dem Zeitraum der temporär peripartalen Immunsuppression. Laut Burvenich et al. (2003) sind Kühe um den Kalbezeitraum herum besonders empfindlich für Euterentzündungen. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die erhöhten freien Fettsäuren eine Schwächung des Immunsystems bedingen und somit die Kühe anfälliger für Infektionen machen (Block et al. 2001, Lacetera et al. 2005, LeBlanc 2005, Scalia et al. 2006, Melendez et al. 2009). Zudem ist eine toxische Wirkung extremer Werte an freien Fettsäuren im Blut belegt (Bell 1995, Eerdenburg und Adewuyi 2005, Scalia et al. 2006). Dies zeigte sich beispielsweise in einer Hemmung des Immunsystems (Suriyasathaporn et al. 2000) und der Ovarfunktion (Staples et al. 1990, Kendrick et al. 1999). Dyk (1995) stellte bei Tieren mit erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren im Blut ($\geq 1 \text{ mEq/l}$) ein erhöhtes Risiko für das Auftreten metabolischer Störungen während der Transitperiode fest. In der Vergangenheit konnten vielfach negative Auswirkungen erhöhter Konzentrationen freier Fettsäuren auf Zellen des Immunsystems sowie deren Funktionen festgestellt werden (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Listenberger et al. 2001, Lacetera et al. 2004, Lacetera et al. 2005, Földi et al. 2006, Scalia et al. 2006). Durch den Nachweis negativer Effekte auf Abwehrzellen liefern diese Autoren mögliche Erklärungsansätze für den Zusammenhang zwischen peripartaler Stoffwechselsituation und der temporären Depression des Immunsystems. Ob jedoch einzelne Fettsäuren sowie deren individuelle Konzentrationen für diese Funktionshemmung ursächlich sind, bedarf weiterer Klärung (Scalia et al. 2006).

2.2.2 Die Bedeutung einzelner Fettsäuren und verschiedener Fettsäuregruppen für das Immunsystem

Fettsäuren dienen in Immunzellen als Kraftstoff für die Energiebereitstellung. Darüber hinaus sind sie wichtige Komponenten der Phospholipide der Zellmembranen und tragen damit zu Strukturbildung und Funktion der Membranen bei. Außerdem modifizieren Fettsäuren Proteinstrukturen und nehmen dadurch Einfluss auf die Lokalisierung und Funktion von Proteinen. Ferner ist beschrieben, dass Fettsäuren die Genexpression regulieren und Auswirkungen auf die Zytokinproduktion, die Lymphozytenproliferation und die Phagozytoseaktivität haben (Urich 1990, de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Löffler 2002, Calder 2008).

2.2.2.1 Erkenntnisse aus In-vitro-Versuchen

In zahlreichen In-vitro-Versuchen konnte gezeigt werden, dass verschiedene Mechanismen und Funktionen des Immunsystems durch Fettsäuren und ihre Metabolite beeinflusst werden.

Lacetera et al. (2004) inkubierten Lymphozyten mit freien Fettsäuren (Zusammensetzung 30% C16:0, 5% C18:0, 15% C18:0, 45% C18:1 und 5% C18:2) in Konzentrationen von 0,0625 bis 2,0 mmol/l über einen Zeitraum von 18 Stunden, um die Auswirkungen von freien Fettsäuren auf die DNA-Synthese, auf die Synthese von Immunglobulin M (IgM) und Interferon γ (IFN γ) sowie auf die Funktion von Lymphozyten zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigten, dass erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren negative Effekte auf bovine Lymphozyten ausüben. Die DNA-Synthese, wie auch die IgM- und die IFN γ -Sekretion zeigten eine signifikante Abnahme. Zuvor konnten die Autoren zeigen, dass hohe Konzentrationen an freien Fettsäuren die Proliferation und die IgM-Sekretion oviner Lymphozyten senken (Lacetera et al. 2002). Diese Versuche liefern Hinweise darauf, dass eine intensive Lipomobilisation das Reaktionsvermögen des Immunsystems schwächt und somit verantwortlich für die temporäre Immunsuppression der Milchkuh ist (Wentink et al. 1997, Lacetera et al. 2004). Lacetera et al. (2005) stellten bei überkonditionierten Milchkühen fest, dass durch die stärkere Lipomobilisation dieser Tiere die Funktion von Lymphozyten beeinträchtigt ist und sie daher vermehrt gefährdet sind, an Infektionen zu erkranken.

Scalia et al. (2006) inkubierten ebenfalls aus Rinderblutproben isolierte PMN mit demselben Gemisch freier Fettsäuren wie Lacetera et al. (2004). Die Konzentrationen 1,0 und 2,0 mmol/l repräsentierten Konzentrationen freier Fettsäuren bei starker Lipolyse. Konzen-

trationen von 0,5 und 0,25 mmol/l standen für eine moderate und Konzentrationen von 0,125 und 0,0625 für eine niedrige Lipomobilisation. Nach Zugabe des Fettsäuregemisches zu den PMN konnten keine Auswirkungen auf die Phagozytose oder die Apoptoserate dieser Zellen festgestellt werden. Bei niedrigen und moderaten Konzentrationen kam es zu einer signifikant verringerten Oxidative-Burst-Aktivität ($P < 0,05$). Bei einer Konzentration von 2 mmol/l zeigte sich eine Zunahme an nekrotischen Zellen und somit eine Abnahme an für das Immunsystem verfügbaren PMN. Die Autoren kommen daher zu dem Schluss, dass hohe Konzentrationen freier Fettsäuren toxisch wirken und zu vermehrter Zellnekrose führen.

Erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren hemmen die Migration, die Phagozytose und die Abtötungsfähigkeit von PMN (Földi et al. 2006). Die Ursache für die peripartalen Funktionsänderung der PMN könnte in der Modifikation der Fettsäurezusammensetzung der Zellmembranen liegen, was zu einer veränderten Membranfluidität führt (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000). Nachfolgend kommt es zu Aktivitätsänderungen membrangebundener Enzyme. Auch auf T-Lymphozyten üben erhöhte Werte freier Fettsäuren im Serum negative Auswirkungen aus (Stulnig et al. 2000). Folglich sind erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren von pathophysiologischer Relevanz für das Immunsystem. Calder (1998) stellte nach Zugabe von Omega-6-Fettsäuren zu einer Lymphozytenkultur fest, dass niedrige Konzentrationen die Proliferation von B- und T-Zellen verbessern, hohe Dosierungen hingegen deren Funktion hemmen. Harbige (2003) zeigte ebenfalls, dass die Omega-6-Fettsäure Eicosatetraensäure sowie deren oxidative Metabolite in höheren Konzentrationen in der Lage sind, die Funktion der Lymphozyten zu hemmen und dadurch immunsuppressiv wirken.

Gleichzeitig sind Fettsäuren auch Ausgangsstoffe verschiedener Mediatoren der Immunantwort und beeinflussen so Chemotaxis oder Vasodilatation und zeigen eine proinflammatorische Wirkung. In der Studie von Calder (2008) zeigte sich eine verminderte Antigen-Präsentation via Major Histocompatibility Complex II (MHC II) durch Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure. Hexadecansäure und Octadecaensäure verursachten in Zellkulturen eine Stimulation der Produktion der Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) durch Phagozyten (Inoguchi et al. 2000). Listenberger et al. (2001) machen gerade diese durch hohe Fettsäurekonzentration verursachte erhöhte ROS-Produktion verantwortlich für Zellschäden und Zelltod durch nekrotische Prozesse. In einem weiteren Versuch verursachten erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren (2 mmol/l) ebenfalls eine deutliche Zunahme der ROS-Bildung (Scalia et al. 2006).

Kommt es zu erhöhtem Einbau der Omega-3-Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure in die Zellmembran, zieht das eine Erniedrigung der Eicosanoidproduktion aus

Eicosatetraensäure nach sich, da diese Fettsäure somit weniger in den Phospholipiden vorhanden ist. Mehrfach ungesättigte Omega-3-Fettsäuren hemmen also den Metabolismus der Eicosatetraensäure (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Calder 2008). Ein vermehrter Einbau von Eicosapentaensäure führte zu einer Zunahme der Produktion von PGE₃ oder Serie-5 Leukotrienen (Calder 2008). Demnach ist eine Regulation der Zytokinproduktion durch Fettsäuren ebenfalls möglich. Wenn auch der genaue Mechanismus weitgehend unbekannt ist, so vermuten de Pablo und Alvarez de Cienfuegos (2000), dass diese Form der Modulation verantwortlich sein könnte für die Senkung der Proliferation von Lymphozyten durch erhöhte Fettsäurekonzentrationen.

2.2.2.2 Erkenntnisse aus Fütterungsversuchen

Der Einfluss von Fettsäuren auf das Immunsystem wird bei Mensch oder Tier durch die Supplementierung verschiedenster Fettkomponenten in Form von Ölen, Mehlen oder Kalziumsalzen untersucht. Bei menschlichen Probanden kam es nach der Gabe von mehrfach ungesättigten Omega-3-Fettsäuren zu einer Abnahme der Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten und Monozyten (Schmidt et al. 1992, Calder 2001). Chassagne et al. (1998) vermuten, dass bei Milchkühen ähnliche Mechanismen vorliegen könnten. Gagnon et al. (2000) fütterten 45 Holsteinkühe mit gesättigten Omega-3- oder Omega-6-Fettsäuren und konnten zeigen, dass es p.p. bei omega-3-reich gefütterten Tieren zu einer Hemmung der Proliferation mononukleärer Zellen kommt.

Vergleicht man bei Mäusen die Fütterung von Olivenöl und Sonnenblumenöl, so zeigte sich bei Gaben von Olivenöl eine deutliche Senkung der Proliferation mitogen stimulierter Lymphozyten (de Pablo et al. 1998). De Pablo und Alvarez de Cienfuegos (2000) führen diese signifikante Senkung der Lymphozytenproliferation auf die hohen Konzentrationen ungesättigter Fettsäuren der Omega-3-Familie zurück, wodurch sich die Zellmembranzusammensetzung verändert. Die dadurch veränderte Membranfluidität bedingt Aktivitätsveränderungen verschiedener membranassoziierter Proteine, die z.B. als Rezeptoren, Ionenkanäle oder Enzyme fungieren (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000). Des Weiteren vermuten de Pablo und Alvarez de Cienfuegos (2000) einen Zusammenhang zwischen der gehemmten Zellproliferation und den während der Lipidoxidation entstehenden stark zytotoxischen Lipidperoxiden. Werden vermehrt Omega-3-Fettsäuren in die Zellmembran eingebaut, steigt aufgrund der vermehrten Anzahl an reaktionsfreudigen Doppelbindungen der Bedarf an Antioxidantien, die vor der Lipidperoxidation schützen.

Kew et al. (2003a, 2003b) stellten in einem Fütterungsversuch mit männlichen Ratten eine negative Korrelation zwischen dem Verhältnis von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren und der Phagozytoseaktivität der Lymphozyten dieser Tiere fest. Dies weist darauf hin, dass eine vermehrte Aufnahme von Omega-3-Fettsäuren die Phagozytoseaktivität verbessern würde. Die Phagozytoseaktivität korreliert zudem negativ mit dem Anteil an Hexadecansäure. Jefferey et al. (1996) fanden in einem Fütterungsversuch mit männlichen Ratten heraus, dass die Senkung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren, also eine Erhöhung der Omega-3-Fettsäuren bzw. eine Senkung der Omega-6-Fettsäuren, zu einem Absinken von Cholesterol, Triacylglycerine und freien Fettsäuren im Blut führt. Die Supplementierung von Octadecadiensäure erhöht die Konzentration der Antikörper im Kolostrum und verbessert die Intensität des Adhäsionsmoleküls L-Selektin, welches bedeutsam für die Bewegung von Neutrophilen und Monozyten vom Blutfluss in das Entzündungsgebiet ist (Staples et al. 2008). Andererseits senkt diese Fettsäure in vivo wie in vitro die Proliferation von Monozyten sowie die Antikörperkonzentration im Plasma. Die Supplementierung von Omega-3-Fettsäuren bewirkt im Vergleich zu Kühen, die nicht mit Fett gefüttert wurden, eine Minderung der Neutrophilenzahl im Blut sowie eine geringere Phagozytoseintensität (Staples et al. 2008).

Eine veränderte Zusammensetzung der Fettsäuren in den Zellmembranen könnte eine Änderung der Expression von Rezeptoren und/oder eine veränderte Fluidität der Membranen bedingen und somit ursächlich für eine verminderte Phagozytoseaktivität sein (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Calder 2008).

Baguma-Nibasheka et al. (1999) stellten bei Schafen nach verstärkter Fütterung von mehrfach ungesättigten Omega-3-Fettsäuren a.p. eine erhöhte Inzidenz für Retentio secundarium p.p. fest. Die bei Retentio secundarium auftretenden niedrigen Anzahlen von Monozyten sowie erhöhten Anzahlen roter Blutzellen könnten in Verbindung mit dem Verhältnis von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren stehen (Chassagne und Barnouin 1992), denn ein unausgeglichenes Verhältnis zwischen beiden Fettsäurefamilien reduziert die Synthese von Cyclooxygenaseprodukten, hemmt die Uteruskontraktion, senkt den Tonus der Gefäße und die Thrombozytenaggregation und führt zu Nachgeburtshalten. Ein erhöhter Anteil an Omega-3-Fettsäuren in Membranen verändert deren viskoelastischen Eigenschaften, wodurch sich die Fluidität senkt (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000) und sich das Aggregationsverhalten der Erythrozyten verändert (Hessel et al. 1990). Durch die Veränderung der Membranen ist eine Plastizitätsveränderung der Erythrozyten möglich. Dieses Defizit könnte dann dazu führen, dass sich die Mikrozirkulation in den Plazentomen

verschlechtert, was wiederum die Retention der fetalen Membranen begünstigt (Chassagne et al. 1998).

2.2.3 Die Bedeutung einzelner Fettsäuren und verschiedener Fettsäuregruppen für die Reproduktionsorgane

Schon lange besteht die Vermutung, dass die negative Energiebilanz und die parallel ablaufenden metabolischen Veränderungen in der peripartalen Phase verantwortlich sind für eine beeinträchtigte Reproduktionsleistung (van Kneysel et al. 2007). So korrelieren z.B. die erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren mit einer herabgesenkten Progesteronkonzentration im Blut sowie mit einer Reduktion des Gewichtes des C.I. (Spicer et al. 1990). Eine Assoziation zwischen der negativen Energiebilanz und der Verzögerung des Erscheinens sichtbarer Östrussymptome, einer Erhöhung des Intervalls Kalbung bis zur ersten Ovulation, einer Senkung der Konzeptionsrate und einem verlängerten Zwischenkalbeintervall sind in der Literatur belegt (Jorritsma et al. 2000, Opsomer et al. 2000).

Weltweit konnte bei Kühen während der letzten Jahrzehnte eine deutliche Abnahme der Fertilität festgestellt werden (Lucy 2001). Mögliche Ursachen hierfür sind eine minderwertige Qualität der Oocyten, eine minderwertige Embryonenqualität, sowie ovarielle oder endokrine Dysfunktionen (Leroy et al. 2005a, Vanholder et al. 2005). So stellten Opsomer et al. (2000) fest, dass Tiere mit einer negativen Energiebilanz ein erhöhtes Risiko für eine verzögerte Aufnahme der Zyklusfunktion p.p. zeigten. Reduziertes Wachstum von Follikeln, die sich vor dem Erreichen des Tiefpunktes der negativen Energiebilanz entwickeln, sowie deren verminderte Östradiolproduktion könnte auf eine gesenkte LH-Pulsatilität und niedrige IGF1-Konzentrationen zurückzuführen sein (Beam und Butler 1997). Solche Follikel benötigen mehr Zeit für das Wachstum.

Ein weiterer Angriffspunkt von Fettsäuren, v.a. von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA), liegt auf molekularer Ebene (Thatcher et al. 2004). Viele Transkriptionsfaktoren, die an der Genexpression beteiligt sind, sind durch spezifische Fettsäuren und Eicosanoide aktivierbar (Desvergne und Wahli 1999). Diese Transkriptionsfaktoren sind wiederum in die Regulation der Gene, die für die Steroid- und Prostaglandinsynthese zuständig sind, involviert (Lim et al. 1999).

2.2.3.1 Erkenntnisse aus In-vitro-Versuchen

Viele In-vitro-Versuche haben sich mit der Wirkung einzelner Fettsäuren oder Fettsäuregemischen auf die Reproduktion auseinandergesetzt. Eine toxische Wirkung hoher Konzentrationen freier Fettsäuren auf verschiedene Zellkulturen ist belegt (Mu et al. 2001, Lu et al. 2003, Vanholder et al. 2005).

Nach einer 48-stündigen Inkubation von humanen Granulosazellen mit den Fettsäuren Octadecansäure (C18:0), Octadecaensäure (C18:1n9) und Hexadecansäure (C16:0) in verschiedenen Konzentrationen (150, 300 und 500 $\mu\text{mol/l}$) sowie mit einem Gemisch aller drei Fettsäuren (die Konzentration je Fettsäure betrug 150 $\mu\text{mol/l}$) konnte gezeigt werden, dass Hexadecansäure und Octadecansäure einen negativen Effekt auf die Lebensfähigkeit dieser Zellen ausüben (Mu et al. 2001). Octadecansäure und Hexadecansäure hemmten signifikant die Zellproliferation in allen drei verwendeten Konzentrationen, während Octadecaensäure diese nur in ihrer höchsten Konzentration hemmte. Das Fettsäuregemisch senkte die Zellteilung um 35%. Die Inkubation mit Octadecaensäure und Hexadecansäure verursachte eine Zunahme der frühapoptotischen Zellen. Eine Zunahme der spätapoptotischen Zellen war bei allen drei Fettsäuren zu verzeichnen. Hexadecansäure stimulierte dosisunabhängig die Produktion von Östradiol. Octadecansäure löste diese Zunahme nur bei 300 und 500 $\mu\text{mol/l}$ aus, Octadecaensäure sogar nur bei 500 $\mu\text{mol/l}$. Die Kombination aller drei Komponenten stimulierte die Östradiolproduktion signifikant.

Leydigzellen von Ratten zeigten nach Inkubation mit Fettsäuren ebenfalls eine Zunahme der Apoptose (Lu et al. 2003). Die Inkubation boviner Granulosazellen mit Octadecaensäure führte zu einer signifikanten Senkung der Proliferation der Granulosazellen ($P < 0,05$) (Jorritsma et al. 2004). Außerdem kam es zu einer Absenkung der Zellteilungsrate der Oocyten. Wenn man davon ausgeht, dass eine Beziehung zwischen der Konzentration freier Fettsäuren im Plasma und in der Follikelflüssigkeit besteht (Jorritsma et al. 2003, 2004), dann liefern diese Ergebnisse einen Erklärungsansatz für ein verzögertes Wachstum und eine dadurch auftretende verminderte Gewichtsentwicklung der C.I. während der Phase negativer Energiebilanz. Dies könnte somit die Ursache einer irregulären Zyklusentwicklung sein. Die Veränderung der Konzentrationen freier Fettsäuren wirkt sich vermutlich auch auf die Membranzusammensetzung der Oocyten aus (Jorritsma et al. 2004).

Leroy et al. (2005a) untersuchten die Beziehungen zwischen erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren und der Oocytenqualität als Faktor für Subfertilität. Sie inkubierten bovine Oocyten mit den Fettsäuren Hexadecansäure, Octadecansäure und Octadecaensäure jeweils in

den Konzentrationen 67, 133 und 200 $\mu\text{mol/l}$. Jede Fettsäure wurde auf ihre Effekte auf die Zellteilungsrate 48 Stunden nach der Fertilisation und die Ausbeute an Blastocysten am 8. Tag nach der Fertilisation untersucht. Octadecansäure verursachte eine deutliche Senkung der Zellteilungsrate sowie der Blastocystenausbeute ($P < 0,05$). Beide Untersuchungsparameter nahmen unter Einwirkung von Hexadecansäure tendenziell ab. Octadecansäure wies keinen merklichen Effekt auf. Durch den Zusatz von Octadecansäure und in geringerem Maße von Hexadecansäure wurde die Fertilitätsrate signifikant gesenkt. Die Anzahl an apoptotischen und spätapoptotischen bzw. nekrotischen Zellen wurde durch Hexadecansäure und Octadecansäure signifikant gesteigert, und die Cumuluszellen der Oocyten zeigten ebenfalls eine erhöhte Apoptoserate. Da aber gerade diese Zellart für die Oocytenreifung unerlässlich ist, könnte hierin einer der Gründe für die negativen Auswirkungen der negativen Energiebilanz auf die Fertilität liegen (Leroy et al. 2005b).

Hexadecansäure, Octadecansäure und in geringerem Maße Octadecansäure konnten einzeln oder in einem Gemisch die Proliferation boviner Granulosazellen hemmen und dadurch die Steroidgenese und die Gesundheit dieser Zellen negativ beeinflussen (Vanholder et al. 2005). Der Grund hierfür könnte in einer Induktion der Apoptose liegen. Vor allem die Octadecansäure zeigte ein starkes toxisches Potential (Nekrose und Apoptose).

Die Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure sind in der Lage, die Prostaglandinbiosynthese in Zellen und Geweben zu verändern (Mattos et al. 2003). In einem In-vitro-Versuch stimulierte Eicosatetraensäure die Prostaglandinsynthese, was damit zusammenhängt, dass sie der direkte Präkursor der Prostaglandine ist. Die Omega-3-Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure senkten die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese am wirkungsvollsten. Wider Erwarten nahm Octadecadiensäure, obwohl sie direkter Vorläufer der Eicosatetraensäure ist, keinen Einfluss auf die Sekretion von Prostaglandinen im Endometrium. Eine signifikante Hemmung der Prostaglandinproduktion durch mehrfach ungesättigte Omega-6-Fettsäuren könnte damit zusammenhängen, dass hohe Konzentrationen an Octadecadiensäure die Synthese von Eicosatetraensäure oder aber die Cyclooxygenaseaktivität hemmen (Cheng et al. 2001). In einer anderen Studie wurden bovine Endometriumszellen mit Eicosapentaensäure und Eicosatetraensäure inkubiert (Mattos et al. 2003). Eine Erhöhung der Eicosatetraensäure führte zu einem Anstieg, eine erhöhte Eicosapentaensäurekonzentration zu einer Senkung der Prostaglandinsynthese. Beide Fettsäuren konkurrieren demnach, je nach ihrem Verhältnis zueinander, um das Enzym Prostaglandinendoperoxidsynthase. Auch in einem anderen In-vitro-Versuch konnte nach

Zugabe von Eicosatetraensäure zu endometrialen Zellen eine Steigerung der Prostaglandin-freisetzung festgestellt werden (Danet-Desnoyers et al. 1995).

Nach der Inkubation von Endometriumszellen mit Eicosapentaensäure konnte gezeigt werden, dass die Auswirkungen dieser Fettsäure auf die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese abhängig von dem Verhältnis zwischen Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren sind (Caldari-Torres et al. 2006). Die Omega-3-Fettsäure Eicosapentaensäure ist ein potenter Inhibitor der Prostaglandinsekretion. Eine Erhöhung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren führte im Inkubationsmedium zu einer erhöhten Verfügbarkeit von Eicosatetraensäure in den Membranphospholipiden. Eine Hypothese zur Erklärung dieses Mechanismus ist, dass durch die Erhöhung von Eicosapentaensäure in den Phospholipiden die Fettsäure Eicosatetraensäure verdrängt wird und folglich die Synthese der Eicosanoide von Serie-2 zu Serie-3 Prostaglandinen umspringt (Mattos et al. 2003). Denkbar wäre aber auch eine Hemmung der Prostaglandin-Synthetase durch die supplementierte Eicosapentaensäure, oder dass sogar beide Mechanismen existieren (Mattos et al. 2000, Caldari-Torres et al. 2006).

Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure sind potente Hemmstoffe der Cyclooxygenase 2 (COX2), welche die Umwandlung der Fettsäuren in Prostaglandine katalysiert (Ringbom et al. 2001). Der Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor γ (PPAR_{γ}), der die endometriale Prostaglandinproduktion beeinflusst, könnte ebenfalls durch Omega-3-Fettsäuren in der Form beeinflusst werden, dass es zu einer Abnahme der Produktion von $\text{PGF}_{2\alpha}$ und PGE_2 kommt (MacLaren et al. 2003).

2.2.3.2 Erkenntnisse aus Fütterungsversuchen

Durch die Supplementierung von Fettsäuren wurde in einer Vielzahl von Fütterungsversuchen der Einfluss verschiedener Fettsäuren auf die Reproduktionsorgane und dadurch auf den Reproduktionsprozess untersucht.

Die Supplementierung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) über das Futter kann zu einer Veränderung der Reproduktionsleistung führen. Dies kann z.B. durch Modulation des Östrus oder durch eine Veränderung der Bereitstellung von Präkursoren für die Prostaglandinsynthese verursacht werden (Staples et al. 1998, Abayasekara und Wathes 1999, Mattos et al. 2000). Der Beeinflussung der Prostaglandinsynthese durch Supplementierung von Fettsäuren gilt ein besonderes Interesse, da Prostaglandine die Ovaraktivität und die Follikelentwicklung beeinflussen (Moussavi et al. 2007). Durch die Fütterung der Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure kam es zu einer Hemmung der

uterinen Sekretion von $\text{PGF}_{2\alpha}$ und somit zu einer verzögerten Regression des C.I. (Mattos et al. 2000). Nachfolgend verbesserten sich die Überlebenschancen eines Embryos und somit die Fertilität des Tieres. Im Vergleich zu einer Fütterung mit Olivenöl (Octadecadiensäure und Octadecadiensäure) konnte bei der Fütterung von Fischöl ein fünf- bis sechsfacher Anstieg der Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure im Karunkelgewebe festgestellt werden, und es kam bei diesen Tieren zu einer Reduktion des $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Metaboliten im Blut (Mattos et al. 2004). Dies gibt Grund zu der Annahme, dass diese beiden Fettsäuren aktiv an der Senkung der $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Sekretion beteiligt sind. Auch nach der Fütterung von Fischmehl sank die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Sekretion (Mattos et al. 2003). In anderen Studien konnte nach Gabe von Fettsäuren über das Futter eine Steigerung der Prostaglandinsynthese festgestellt werden. Nach der Fütterung mit Eicosatetraensäure zeigte sich bei Leukozyten von Ratten eine höhere PGE_2 -Produktion (Peterson et al. 1998). Bei einer Gruppe von Färsen, die mit Kalziumsalzen der Omega-6-Fettsäure Octadecadiensäure gefüttert wurden, kam es im Vergleich zur nicht supplementierten Tiergruppe im Plasma zu einem Anstieg der Gewichtsprozent dieser Fettsäure und des $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Metaboliten (Filley et al. 2000). Somit kommt es infolge einer erhöhten Gabe von Omega-6-Fettsäuren zu einer erhöhten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion (Filley et al. 2000, Petit et al. 2004).

Eine Fütterung von Fischmehl könnte durch eine Blockade der Regression des C.I. die Sekretion von $\text{PGF}_{2\alpha}$ reduzieren (Ambrose und Kastelic 2003). Basierend auf dieser Vermutung stellten die Autoren die Hypothese auf, dass Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Sekretion im Uterus senken. Auch die Verschiebung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren im Uterusgewebe könnte sich hemmend auf Regulation der $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese auswirken (Moussavi et al. 2007). Werden Zellen einer erhöhten Konzentration an Eicosapentaensäure ausgesetzt, wird die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Sekretion gehemmt (Caldari-Torres et al. 2006). Diese Hemmung ist allerdings reversibel, wenn die Endometriumszellen mit einem erhöhten Verhältnis von Octadecadiensäure zu Eicosapentaensäure behandelt wurden. Dies bedeutet, dass die Nettohemmung durch die Omega-3-Fettsäuren von der Konzentration der Omega-6-Fettsäuren im Zielgewebe abhängig ist. Ausschlaggebend ist hierfür die Konkurrenz der Omega-3- mit den Omega-6-Fettsäuren um die Prostaglandinendoperoxidasesynthase und die damit verbundene Senkung des Substrates Eicosatetraensäure (Thatcher et al. 2004). Octadecadiensäure wirkt während der Phase der maternalen Erkennung der Gravidität als natürlicher Hemmer der uterinen Prostaglandinsynthese (Thatcher et al. 1994). Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure können die Prostaglandinsynthese zum einen durch Hemmung der Eicosatetraensäure-Synthese, die in der Leber durch Desaturierung und Elongation aus Octadecadiensäure stattfindet, hemmen

(Bezard et al. 1994). Zum anderen könnte es durch die Konkurrenz mit Eicosatetraensäure um den Einbau in Membranphospholipide, was die Verfügbarkeit an Eicosatetraensäure für die Cyclooxygenase verringert, zu einer Hemmung der Prostaglandinsynthese kommen. Allerdings könnte auch eine kompetitive Blockade der Cyclooxygenaseaktivität für die Hemmung verantwortlich sein (Raederstorff und Moser 1992, Graham et al. 1994, Larsen et al. 1997).

Das Follikelwachstum steht ebenfalls unter dem Einfluss der Wirkung von Fettsäuren. Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung im Serum spiegeln sich auch in der Follikelflüssigkeit wider (Jorritsma et al. 2003, Leroy et al. 2004). Wird der Fettgehalt in Futterrationen bei Rindern erhöht, führt dies sowohl zu einer Erhöhung der Anzahl der Follikel sowie auch der Größe der einzelnen Follikel, die auf dem Ovar zum Untersuchungszeitpunkt präsent waren (Lucy et al. 1991). Dies könnte zum einen damit erklärt werden, dass die vermehrte Fettfütterung den Anteil an Cholesterol im Blut steigert, wodurch die Substratverfügbarkeit für die Bildung der Steroidhormone erhöht wird (Abayasekara und Wathes 1999). So induziert 17- β -Östradiol z.B. die Zellproliferation von Granulosazellen und trägt somit zu einer Wachstumssteigerung bei. Zum anderen könnte eine erhöhte Fettaufnahme den Gehalt an Eicosatetraensäure in den Phospholipiden der Granulosazellen vermehren. Außerdem bewirken Gonadotropine die Freisetzung von Phospholipiden, was sich direkt auf die Steroidsynthese auswirkt (Abayasekara und Wathes 1999). Eine omega-3-reiche Fütterung bei Ratten führte zu einer Zunahme der Ovulationsrate im Vergleich zu Kontrolltieren (Trujillo und Broughton 1995). Eine omega-6-reiche Fütterung verursachte eine Abnahme der freigesetzten Eizellen. In beiden Fällen kam es zu einer Erhöhung der PGE-Produktion. Die Omega-6-reiche Ernährung ließ die PGE₂-Synthese ansteigen, die omega-3-reiche Nahrung steigerte die PGE₃-Produktion. Das Eicosanoid PGE₂ wirkt ovulationshemmend und ist im Vergleich zu PGE₃ stärker biologisch aktiv. Daher könnte nach der Fütterung von Omega-6-Fettsäuren die Ovulation stärker gehemmt sein (Abayasekara und Wathes 1999).

Da es sich bei dem Steroidhormon Progesteron um ein aus Fettsäuren abgeleitetes Molekül handelt, ist die Sekretion von Progesteron ein weiterer Angriffspunkt von Fettsäuren. Ein Vergleich der Fütterungen mit der Omega-6-Fettsäure Octadecadiensäure und mit der Omega-3-Fettsäure Octadecatriensäure konnte zeigen, dass diese Fettsäuren wichtige Teilaspekte der Reproduktion beeinflussen (Robinson et al. 2002). Im Vergleich zu Kontrolltieren, die keine der beiden Fettsäuren zu sich nahmen, zeigte sich in den beiden mit Omega-Fettsäuren gefütterten Tiergruppen eine deutlich niedrigere Progesteronkonzentration. In der mit Octadecatriensäure gefütterten Gruppe zeigten sich erhöhte Östradiolwerte. Die Konzentrationen freier Fettsäuren wurden in allen drei Gruppen nicht beeinflusst. Die

Anzahl mittelgroßer Follikel der ersten und zweiten Follikelwelle nahm sowohl bei der Omega-6- wie auch in der Omega-3-Fütterung zu. Die Lutealzellen omega-3-reich gefütterter Kühe produzierten signifikant mehr Progesteron, was auf eine vermehrte Produktion von PGE₃ aus Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure zurückzuführen ist (Robinson et al. 1998). Dieses Prostaglandin wirkt luteotroph und stimuliert somit die Progesteronproduktion (Abayasekara und Wathes 1999). Auch wenn der Mechanismus der Progesteronsenkung durch die Omega-Fettsäuren bisher noch unklar ist, wäre eine direkte Einwirkung der Octadecadiensäure auf die PGF_{2α}-Synthese durch eine Senkung der Produktion luteotropher PGE₂ denkbar (Robinson et al. 2002). Allerdings könnte es durch die erhöhte Verfügbarkeit von Eicosatetraensäure auch zu einem Anstieg der Plasmacholesterolkonzentration kommen, wodurch die Progesteronproduktion stimuliert wird. Allerdings ist die Relevanz der Follikelgröße für die Fertilität unbekannt, genauso wie die Größe präovulatorischer Follikel (Robinson et al. 2002).

Fettsäuren könnten ebenso positive Wirkung auf den Konzeptionserfolg ausüben. So verbesserten sich bei Kühen nach der Gabe von Fischmehl im Vergleich zu Kontrolltieren die Konzeptionsraten (64 % vs. 44 %) (Armstrong et al. 1990). Die Anzahl der künstlichen Besamungen bis zur erfolgreichen Konzeption lag mit durchschnittlich 1,62 niedriger als bei Kontrolltieren mit durchschnittlich 2,31 Besamungen. Die Fütterung zweier Herden mit Fischmehl im Zeitraum 24 bis 109 Tage p.p. führte im Vergleich zu Kontrolltieren in einer der beiden Herden zu einer verbesserten Trächtigkeitsrate (41,3 % vs. 31,95 %) (Burke et al. 1997). Die Autoren führen dies auf die erhöhte Fettsäureaufnahme zurück.

2.2.3.3 Einfluss von Fettsäuren und deren Metaboliten auf die frühe Embryonalentwicklung

Etwa 40 Prozent aller Embryonalverluste treten während der Tage 8 bis 17 nach dem Östrus auf und resultieren vermutlich aus der Unfähigkeit die Regression des Gelbkörpers zu verhindern (Jones et al. 2008). Bei nicht tragenden Kühen wird das C.I. nach 16 Tagen durch die uterine Freisetzung von PGF_{2α} aufgelöst, und es kommt zum Wiedereinsetzen des Zyklus. Bei tragenden Tieren hingegen muss dieser Prozess unterdrückt werden, um das C.I. zu erhalten und die Trächtigkeit zu etablieren. Diese Suppression ist abhängig von einer rechtzeitigen Aussendung des Interferons τ durch den Embryo. Dieses Signal lässt den maternalen Organismus die bestehende Gravidität erkennen (Thatcher et al. 1997). Wird Interferon τ in zu geringen Mengen abgegeben, fehlt die Suppression des PGF_{2α} und das C.I. bildet sich zurück (Thatcher et al. 2001). Es kommt zum embryonalen Fröhntod (Ambrose und

Kastelic 2003). Ebenso essentiell für die Erhaltung einer Gravidität sind adäquate Progesteronlevel (Formigoni und Trevisi 2003). Ist die Progesteronsekretion in den ersten Wochen nach der Konzeption zu niedrig, beeinflusst dies das Wachstum des Embryos negativ (Thatcher et al. 2001). Die Länge des Konzeptus steht aber in direkten Zusammenhang mit der Sekretion von Interferon τ . Die Aufnahme von Omega-3-Fettsäuren über die Nahrung, z.B. in Form von Kalziumsalzen entsprechender Fettsäuren, führte zu einer Erhöhung der Länge des Konzeptus und somit zu einer verbesserten Synthese von Interferon τ (Bilby et al. 2006b). Tiere mit einer sehr starken negativen Energiebilanz innerhalb der ersten neun Tage p.p. wiesen im dritten Zyklus p.p. noch immer niedrige Plasmaprogesteronkonzentrationen auf (Villa-Godoy et al. 1988). Die Reduktion der Progesterongehalte könnte auf das bei Hochleistungskühen nachgewiesene niedrigere Gewicht des Gelbkörpers zurückzuführen sein (Bilby et al. 1999). Ein weiterer Grund für niedrige Plasmaprogesterongehalte könnte ein erhöhter Blutfluss in der Leber sein, den die hohe Futtermittelaufnahme von Hochleistungsmilchkühen mit sich bringt. Da die Leber das Hauptorgan des Progesteronmetabolismus ist, steigt durch den erhöhten Blutfluss der Abbau von Progesteron an (Lucy 2001). Eine Unterversorgung mit Nährstoffen und massiver Gewichtsverlust tragen ebenfalls zur Senkung der Progesteronkonzentration im Blut bei (Formigoni und Trevisi 2003).

2.2.4 Fettsäuremuster im Blut und in einzelnen Organen des Rindes

Die Zusammensetzungen der Fettsäuren im Blut, verschiedenen Geweben und in der Milch sind nicht konstant und werden durch unterschiedliche Fütterungsbedingungen, Stoffwechselbelastungen und den Reproduktionszyklus der Tiere und weitere Faktoren beeinflusst. So stellten Zachut et al. (2010) in ihren Untersuchungen fest, dass die Verfütterung erhöhter Gehalte an Linolensäure (C18:3n3) die Fettsäureprofile in Blutplasma, Fettgewebe und in der Milch beeinflussen. Zu entsprechenden Ergebnissen kamen Akraim et al. (2007), die in Milch und Plasma von Kühen, die Futtermittelrationen mit 16,6 % Leinsaat in der Trockenmasse erhielten, eine Abnahme der Anteile von Fettsäuren mit weniger als 18 C-Atomen und eine deutliche Veränderung des Verhältnisses der Anteile von Linol- und Linolensäure beobachteten. Nach der Kalbung steigt die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum an (Rukkwamsuk et al. 1999b). Die prozentualen Anteile der verschiedenen Fettsäuren verändern sich dramatisch, wenn die Lipolyse zunimmt. Diese Veränderungen werden besonders deutlich bei Tieren, die eine massive Fettleber entwickelten. Nach der Kalbung tritt vermehrt Hexadecansäure im Serum auf, was den Rückschluss zulässt, dass diese Fettsäure durch Lipolyse aus dem Depotfett mobilisiert wird (Rukkwamsuk et al. 1999b). Weiterhin wurde untersucht, ob eine Korrelation zwischen den prozentualen Anteilen der Fettsäuren in

der Leber und der Fettsäurekomposition von Blut und Fettgewebe besteht (Rukkwamsuk et al. 2000). Dazu wurden Fettgewebe, Serum sowie Lebergewebe von 13 multiparen graviden Kühen der Rasse Holstein Friesian untersucht. Sechs dieser Tiere wurden rationiert gefüttert. Die anderen sieben wurden überfüttert. Die Blut und Lebergewebeproben wurden jeweils 1 Woche a.p. und ½, 1 und 2 Wochen p.p. gewonnen. Subkutanes Fett wurde 1 Woche a.p. und ½, 1, und 3 Wochen p.p. entnommen. Die einzelnen Fettsäuren wurden nach vorausgegangener Extraktion mittels Gaschromatographie bestimmt. Die Hauptkomponenten des Fettgewebes, Hexadecansäure, Hexadecaensäure, Octadecansäure und Octadecaensäure, zeigten in beiden Gruppen zu allen Untersuchungszeitpunkten ähnliche Konzentrationen. Die Hauptfettsäuren im Serum waren die Hexadecansäure, die Octadecansäure, die Octadecaensäure und die Octadecadiensäure. Ante partum war in beiden Tiergruppen ein Anstieg der individuellen Fettsäurekonzentrationen im Serum zu verzeichnen. Bei überfütterten Tieren fiel dieser allerdings stärker aus. Bei den überfütterten Kühen stieg während des Zeitraumes ½ Wochen a.p. bis 1 Woche p.p. die Hexadecansäure um 435 %, die Octadecansäure um 704 % und die Octadecaensäure um 823 % an. Die Gesamtkonzentration der freien Fettsäuren stieg im gleichen Zeitraum um 546 %. Dies bedeutet, dass v.a. die Hauptfettsäuren des Fettgewebes zum Anstieg der Fettsäuren im Serum beitragen. Bei den rationiert gefütterten Tieren stieg während des Zeitraumes ½ Wochen a.p. bis 1 Woche p.p. die Hexadecansäure um 265 %, die Octadecansäure um 216 % und die Octadecaensäure um 286 % an, was auf eine mildere Lipolyse dieser Tiere schließen lässt. Im Lebergewebe kommen v.a. die Hexadecansäure, die Octadecansäure, die Octadecaensäure und die Octadecadiensäure vor. Bei rationiert gefütterten Kühen zeigte p.p. nur die Octadecadiensäure einen signifikanten Anstieg. Die Konzentration der Octadecansäure wies in der Leber über den gesamten Untersuchungszeitraum keine Veränderungen auf. Bei den überfütterten Versuchstieren stiegen a.p. die Hexadecansäure, die Octadecaensäure und die Octadecadiensäure wesentlich stärker an. Die Octadecansäure zeigte a.p. keinen Anstieg. Ursächlich dafür könnte die spezifische Nutzung dieser Fettsäure für die Oxidation oder aber eine Sekretion über die Milch sein. Jede einzelne Fettsäure übernimmt spezifische Funktionen, ihre Konzentrationsveränderungen könnten Auswirkungen auf Gesundheit, Leistung und Reproduktion des Einzeltieres haben (Rukkwamsuk et al. 2000). Auch Vanholder et al. (2005) stellten fest, dass sich während einer negativen Energiebilanz die totale Konzentration der freien Fettsäuren Hexadecansäure, Octadecansäure und Octadecadiensäure im Blut erhöhen.

In einer Studie wurde nach einer omega-3-reichen Fütterung in einem Zeitraum von sechs Wochen a.p. bis vier Wochen p.p. unter anderem die Konzentrationen der freien Fettsäuren im Plasma untersucht (Petit et al. 2007). Die Plasmalipide wurden extrahiert, zu Methylestern

umgewandelt und mittels Gas-Liquid-Chromatography bestimmt. Die Verläufe der Fettsäuren bei den Kontrolltieren geben Aufschluss über den physiologischen Verlauf einzelner Fettsäuren. Die Hexadecansäure zeigte ca. zwei Wochen a.p. einen leichten Abfall von 20 % auf ca. 17 %, erreichte dann ein Maximum von ungefähr 21 % am Tag der Kalbung und sank dann wieder ab. Die Octadecansäure zeigte zwei Wochen a.p. einen geringgradigen Anstieg von ca. 18 % auf knappe 21 % und sank dann langsam wieder unter 20 %. Die Octadecaensäure stieg vor der Kalbung deutlich an und erreichte ihr Maximum am Tag der Kalbung mit ca. 18 % der totalen Fettsäuren im Plasma. Danach fiel die Konzentration p.p. wieder ab. Im Unterschied zu den drei vorher betrachteten Fettsäuren fielen die Konzentrationen der Octadecadiensäure und der Octadecatriensäure um die Kalbung herum ab. Die Octadecadiensäure sank im Zeitraum zwei Wochen a.p. bis zum Tag der Kalbung von ca. 34 % auf 25 %. Nach der Geburt zeigte sich ein deutlicher Anstieg und vier Wochen p.p. erreichte diese Fettsäure einen Anteil an den freien Fettsäuren von über 40 %. Der Abfall der Octadecatriensäure begann ungefähr zwei Wochen vor der Kalbung und hielt bis zum Ende des Versuchszeitraums vier Wochen p.p. an.

Zu den dominanten Fettsäuren im Serum und in der Follikelflüssigkeit gehören die Hexadecansäure, die Octadecansäure und die Octadecaensäure (Leroy et al. 2005a). Die Gesamtkonzentration der freien Fettsäuren liegt in der Follikelflüssigkeit mit 0,2 bis 0,7 mmol/l ca. 40 % niedriger als im Serum mit 0,4 bis 1,2 mmol/l (Leroy et al. 2005a).

Im Rahmen einer Analyse von Fettsäuregehalten in biologischen Proben von Rindern und Kamelen wurden Serumproben sechs gesunder Kühe auf ihre Zusammensetzung hin untersucht (Stahl 2005). Die Ergebnisse zeigten, dass die Octadecadiensäure die Hauptkomponente der Fettsäuren im Blut ausmacht (56,8 Gewichtsprozent). Außerdem wurde festgestellt, dass v.a. ungesättigte Fettsäuren im Serum auftraten (72,7 ± 1,3 Gewichtsprozent). Omega-6-Fettsäuren machten dabei mit 62,0 ± 2,7 Gewichtsprozenten den Hauptanteil aus.

Weitere in der Literatur gefundene individuelle Fettsäurekonzentrationen sind in Tabelle 3 aufgeführt. Ein Vergleich der einzelnen Konzentrationen untereinander ist allerdings aufgrund der verschiedenen Einheiten für die Konzentration der Fettsäuren nur bedingt möglich.

Tabelle 3: Konzentrationswerte von Fettsäuren und Fettsäuregruppen bei Rindern

Autor	Biologische Probe	Einheit	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1n9	C18:2n6	C18:3n3	C20:0	C20:5n3	C22:5n3	C22:6n3	C20:4n6	C22:0	SFA	w3	w6	w6/w3	MUFA	PUFA
Evans et al. 1960	Serum	Gewichts% der totalen Fettsäuren der Lipoproteine	1,4	13,0	2,7	18,0	7,8	49,0	6,6												
Lacasse et al. 2002	Plasma von Kontrolltieren	mg / g Fett	10,4	119,0		160,0	86,0	473,0	35,3		6,9	5,3	3,7								
Kay et al. 2005	Plasma von Kontrolltieren	g / 100g der totalen Fettsäuren	1,15	10,85	0,96	15,87	7,87	41,30													
Scholljegerdes et al. 2007	Plasma von Kontrolltieren	mg / g gefriergetrocknetes Plasma		6,20		7,10	0,43	11,90	1,20		0,02		0,24	1,00		13,60				6,60	14,40
Moussavi et al. 2007	Leber von Kontrolltieren Endometrium von Kontrolltieren	g / 100g Fettsäure g / 100g Fettsäure	3,17 0,48	32,94 15,28	1,35 0,30	11,63 17,55	18,66 15,94	9,43 14,95	1,07 0,72	0,06 0,45	0,54 0,28	1,54 2,41	0,28 1,11	3,32 13,00	0,13 --		1,89 2,11	12,75 27,95	6,61 13,60		
Douglas et al. 2007	Plasma von Kontrolltieren	Gewichts% a.p. Gewichts% p.p.	0,96 0,71	17,64 15,80	1,89 2,67	19,29 15,24	16,43 16,24	31,04 38,17	2,05 1,94					2,32 2,09	4,44 3,26						

3 Material und Methoden

Die Messungen zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Gesamtfettsäuregehaltes in bovinen Serumproben wurden im Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg durchgeführt.

3.1 Material

3.1.1 Herkunft des Probenmaterials

Die Blutproben stammen von 105 weiblichen Tieren der Rasse Deutsche Holsteins, Farbrichtung Schwarzbunt, aus einem Milcherzeugerbetrieb in Brandenburg (Lübbinchener Milch und Mast GbR, Feldscheunenweg 4, 03172 Schenkendöbern, OT Lübbinchen). Die Proben wurden während des Zeitraumes Mitte September bis Mitte Dezember 2006 entnommen. Ausführliche Informationen zu Tierhaltung, Betriebs- und Fütterungsmanagement finden sich bei Euler (2009).

Für die nachfolgenden Untersuchungen wurden aus den 105 Blutproben nach dem Zufallsprinzip 25 Proben von gesunden und 25 Proben von an Gebärmutterentzündung erkrankten Tieren ausgewählt.

3.1.2 Geräte

Heizblock:

Mode HBT-2-132 (HLC- Haep Labor Consult, Bovenden, Deutschland)

Evaporator:

Combi-Dancer Infra Red vortex-Evaporator (Hettich AG, Bäch, Schweiz)

Gaschromatograph:

Gaschromatograph, 6890N Network GC-System (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

Autosampler, 7683 Series Autosampler (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

Vorsäule: deactivated fused silica, 30 m x 0,25 mm innerer Durchmesser (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

Kapillartrennsäule: DB-FFAP, fused silica, 30 m x 0,25 mm innerer Durchmesser, Filmdicke 0,26 µm (J&W Scientific, Agilent Technologies, CA, USA)

Liner, single taper goose neck liner (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

Massenspektrometer:

5975 inert XL Mass Selective Detector, Quadropol (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

Transferpipetten:

Verschiedene Volumina (1-20µl, 100-200µl, 100-1000µl, 1000-5000µl) (Brand GmbH und Co KG, Wertheim, Deutschland)

Tischzentrifuge

Labofuge A (Heraeus, Osterode, Deutschland)

Analysegerät für die freien Fettsäuren

Roche/Hitachi 902 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland)

3.1.3 Reagenzien

Methanol, LC-MS Grade (Fisher Scientific GmbH, Ulm, Deutschland)

Acetylchlorid (Fluka, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxytoluene, gelöst in Propanol (Supelco, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

Hexan für GC, Reinheitsgrad ≥ 99,0% (Fluka, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

Isooctan, HPLC-grade (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

Acetonitril, Reinheitsgrad > 99,0% (Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland)

n-Propanol, Reinheitsgrad > 99,0% (Fluka, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

Chloroform, HPLC-grade (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

Kalibrationsstandard: Mischung ungesättigter und gesättigter Fettsäuren mit gerader Anzahl Kohlenstoffatome C12:0 – C24:0, gelöst in n-Propanol, Konzentration: 0,610 nmol/l - 5 mmol/l, (Supelco, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland), Zusammensetzung siehe Anhang Tabelle 8

Interner Standard 1 (IS1): Mischung gesättigter Fettsäuren mit ungerader Anzahl Kohlenstoffatome C9:0 – C19:0, gelöst in n-Propanol (Fluka, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland), Zusammensetzung siehe Anhang Tabelle 9

Interner Standard 2 (IS2): [¹³C]Algen-Fettsäure-Mix, Reinheitsgrad > 98%, gelöst in n-Propanol (Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover, MA, USA), Zusammensetzung siehe Anhang Tabelle 10

NEFA-Kit FA115 (Radox Laboratories, Crumlin, England)

3.1.4 Verbrauchsmaterialien

Mikroeinzel, 0,1 ml, mit Polymerfuß, Klarglas (Fisherbrand, Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland)

Braunglas-Fläschchen, Gewindeflasche, 4 ml ND 13 (Fisherbrand, Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland)

Deckel Braunglas-Fläschchen, 13 mm Verschlusskappe schwarz (Fisherbrand, Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland)

GC-Fläschchen, Gewinderand, 1,5 ml Probengläser (Marchery-Nagel GmbH und Co. KG; Düren, Deutschland)

GC-Fläschchen, Rollrand, 2,0 ml Probengläser (Gerstel, Mühlheim, Deutschland)

Deckel GC-Fläschchen, 9 mm PP blau Silicon (Fisherbrand, Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland)

Aluminium Bördelkappen, mit Septum (Gerstel, Mühlheim, Deutschland)

Monovette®, 9 ml (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland)

3.2 Methoden

3.2.1 Probengewinnung und -verarbeitung

Die Vollblutproben wurden an den in Tabelle 4 beschriebenen Tagen aus der Vena jugularis bzw. aus der Arteria coccygea mittels Monovetten-System (9ml Monovette®, Firma Sarstedt, Nümbrecht) ohne weiteren Zusatz entnommen. Unmittelbar nach der Gewinnung wurden die Blutproben für fünf Minuten bei 3000 U/min in einer Tischzentrifuge der Firma Heraeus zentrifugiert. Das so gewonnene Serum wurde mit einer Pipette abgenommen, in sterile Eppendorfgläser aliquotiert und bis zur Untersuchung bei -80°C gelagert. Die Einzelproben wurden mit den Buchstaben A-G bezeichnet.

Stimmte die Abkalbung des Tieres mit dem errechneten Geburtstermin überein, wurden dem Einzeltier an sieben Untersuchungszeiten Blutproben entnommen (n=7). Kalbte ein Tier nach der Untersuchungszeit -2 aber vor der Untersuchungszeit -1, wurde antepartal nur eine Blutprobe gewonnen. Die Blutprobe A wurde in diesem Fall zu Blutprobe B (n=6). Hatte eine Kuh eine Woche nach der Probenentnahme zur Untersuchungszeit -1 noch nicht gekalbt, wurde eine weitere Probe entnommen, die dann zu Blutprobe B wurde. Die bisherige Probe B wurde zu A und die ursprüngliche Probe A wurde verworfen (n=7).

Tabelle 4: Entnahmezeitpunkte der Blutproben

Bezeichnung	Untersuchungszeiten	Probenentnahme
A	-2	17 bis 11 Tage vor der Kalbung
B	-1	10 bis 4 Tage vor der Kalbung
C	1	1 Tag nach der Kalbung
D	4	4 Tage nach der Kalbung
E	11	11 Tage nach der Kalbung
F	21	21 Tage nach der Kalbung
G	28	28 Tage nach der Kalbung

3.2.2 Klinische Untersuchung des Uterus

Der Verlauf des Puerperiums und der puerperalen Erkrankungen, insbesondere Erkrankungen der Gebärmutter, wurden durch Euler (2009) mittels regelmäßiger klinischer Untersuchungen bis zur 4. Woche p.p. diagnostiziert und dokumentiert.

Die Untersuchung der Gebärmutter der Einzeltiere wurde an den Zeitpunkten E bis G in Anlehnung an Grunert (Grunert 1990) durchgeführt. Für die vaginale Untersuchung wurden Spekula nach Abelein und Gleitgel der Firma Selectavet, Weyarn-Holzolling, verwendet.

Der gynäkologische Untersuchungsgang bestand aus folgenden Schritten:

- Adspektion der äußeren Genitale zur Feststellung von Besonderheiten wie Ausfluss oder Verletzungen.
- Vaginale Untersuchung zur Beurteilung der Schleimhautfarbe der Vagina, zur Feststellung und Beurteilung von Sekret und Verletzungen sowie zur Bewertung des Öffnungsgrades und der Farbe der Portio vaginalis cervicis.
- Rektale Untersuchung zur Beurteilung der Größe der Zervix auf Höhe der Portio vaginalis cervicis, der Größe und des Tonus des Uterus sowie zur Feststellung von Funktionsgebilden auf den Ovarien.

Unter Zuhilfenahme der Definition von Sheldon et al. (2006) (siehe Kapitel 2.1.3) wurden die Tiere nach Befunderhebung in uterusgesunde und uterusranke Tiere eingeteilt. Kühe galten als uteruskrank, wenn sie eine puerperale oder klinische Metritis, eine klinische Endometritis oder eine Pyometra aufwiesen. Tiere ohne Anzeichen der zuvor genannten Formen von Gebärmutterentzündungen wurden der Gruppe der uterusgesunden Tiere zugeordnet.

3.2.3 Bestimmung der Fettsäure-Methyl-Ester (FAME) in Serumproben

In dem vorliegenden Probenmaterial erfolgte eine qualitative und quantitative Analyse der totalen Fettsäuren als Fettsäuremethylester (FAME). Die Probenanalyse wurde mit einem Gaschromatographie/Massenspektrometrie-System (GC/MS-System) der Firma Agilent Technologies (Palo Alto, Kanada, USA), bestehend aus dem Gaschromatographen 6890N und dem Inert Mass Selective Detector 5975 durchgeführt (Abbildung 3).

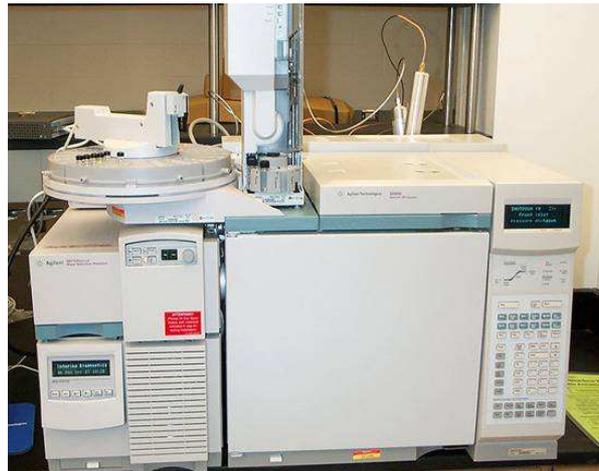


Abbildung 3: Verwendetes Gaschromatographie/Massenspektrometrie-System

Prinzip der Methode

Zuerst wurden die Fettsäuren aus den Seren extrahiert und derivatisiert (Masood et al. 2005), dann wurden die Extrakte mittels Gaschromatographie getrennt und im Massenspektrometer detektiert. Zur Detektion erfolgte im gekoppelten Massenspektrometer die Ionisierung, Ionentrennung und Detektion (Abbildung 4).

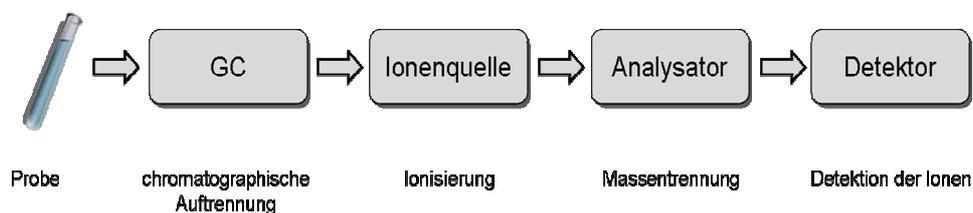


Abbildung 4: Schematischer Aufbau eines Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Systems (GC/MS)

Derivatisierung

Um organische Substanzen für die gaschromatographische Untersuchung zugänglich zu machen, müssen diese in einen flüchtigen Zustand überführt werden. Um eine ausreichende Flüchtigkeit der polaren Fettsäuren zu erreichen, ist eine Derivatisierung ihrer funktionellen Gruppen notwendig. Bei Fettsäuren hat sich die Veresterung zu einem sogenannten Fettsäuremethylester (FAME) als Methode der Wahl herausgestellt (Lepage und Roy 1988). Der Ablauf dieser Reaktion wird in Abbildung 5 dargestellt.

In dieser Arbeit wurde die Derivatisierung und Extraktion der biologischen Proben nach der simplifizierten Methode von Masood et al. (2005), die auf der Methode von Lepage und Roy

(1988) basiert, durchgeführt (Abbildung 6). Im ersten Arbeitsschritt wurden jeweils 10 µl des internen Standards 1 und 2 in ein 4 ml Schraubvial pipettiert und anschließend im Evaporator zur Trockne eingedampft. Im Anschluss wurden 50 µl des zu untersuchenden Serums sowie 100 µl Butylhydroxytoluol (BHT) dazugegeben. Danach wurden 1800 µl des Derivatisierungsreagenz (Zusammensetzung: 100 µl Acetylchlorid gelöst in 1700 µl Methanol) zuge-
 setzt, gemischt und bei 100°C für 60 Minuten inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt.

Im nächsten Arbeitsschritt erfolgte die Extraktion der FAME durch Hexan. Dazu wurden 750 µl Hexan zum Probengemisch hinzugefügt und für 30 Sekunden auf dem Vortexer gemischt. Danach wurde die so entstandene obere organische Phase mittels Pipette vorsichtig abge-
 nommen und in ein 1,5 ml Schraubvial überführt. Anschließend wurden zur Optimierung der Lipidextraktion diese Arbeitsschritte wiederholt.

Der Hexanextrakt wurde im Evaporator zur Trockne eingedampft und die FAME im Anschluss erneut in 60 µl Hexan gelöst. Die Hexanlösung wurde in einen Mikroeinsatz mit Polymerfüß-
 chen überführt. Damit war die Probenvorbereitung abgeschlossen und die Messung der FAME im dem Gaschromatographie/Massenspektrometrie-System folgte.

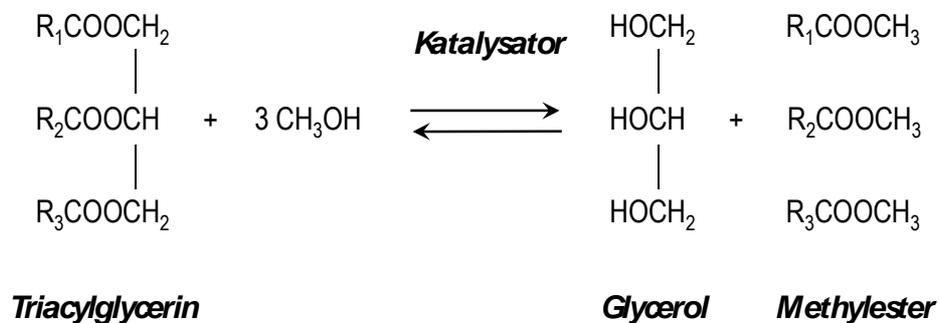


Abbildung 5: Reaktionsschema des Derivatisierungsprozesses von Fettsäuren zu Fettsäuremethylestern (FAME)

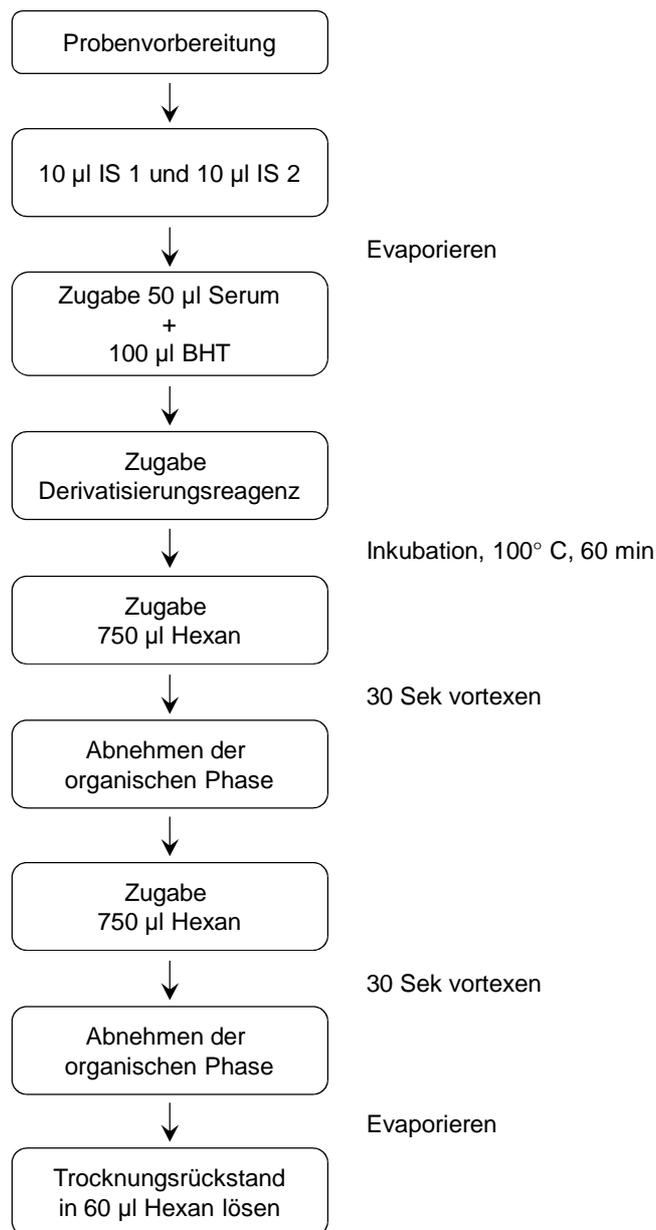


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Probenvorbereitung zu Herstellung der Fettsäuremethylester nach Masood et al. (2005), IS= interner Standard, BHT= Butylhydroxytoluol

Kopplung Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Nach der Probenvorbereitung, die sich aus der Derivatisierung und der Extraktion zusammensetzt, erfolgte die Analyse der FAME mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (Abbildung 7). Für jede gemessene Probe wurden ein Chromatogramm und ein Massenspektrogramm generiert.

Zur sicheren Identifizierung einer Substanz dienen das Massenspektrum und die Retentionszeit im Chromatogramm, die mit der Retentionszeit entsprechender Referenzsubstanzen übereinstimmen müssen.

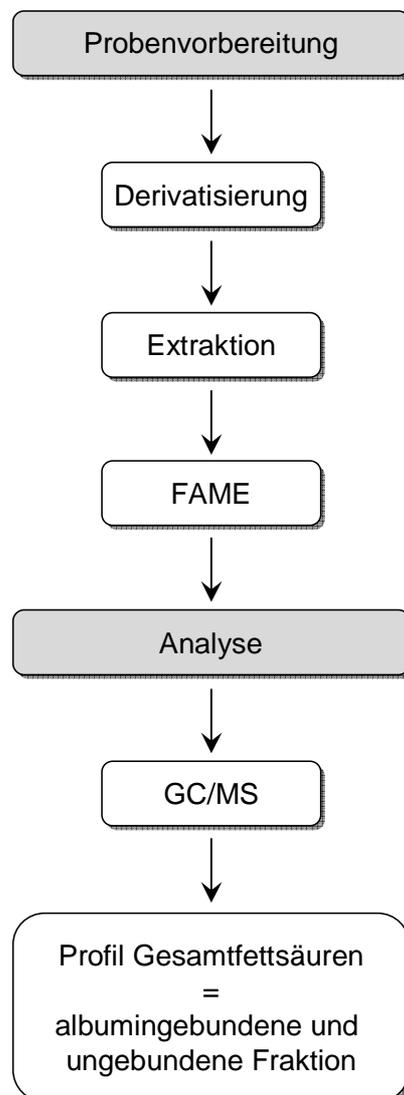


Abbildung 7: Übersicht über den Analyseprozess zur Bestimmung der Gesamtfettsäuren, (FAME=Fettsäuremethylester, GC/MS=Gaschromatographie/Massenspektrometrie)

Gaschromatographische Bedingungen

Bei der im Gaschromatograph verwendeten Säule handelt es sich um eine 30 m lange DB-FFAP, fused silica, mit einer Filmdicke von 0,26 μm . Das Heizprogramm des Säulenofens ist der Tabelle 5 zu entnehmen. Das Injektionsvolumen betrug 1 μl und wurde bei einer Temperatur von 245°C splitlos injiziert. Als Trägergas wurde Helium verwendet. Die Gesamtlaufzeit einer Trennung betrug 69,25 Minuten.

Tabelle 5: Heizprogramm des Säulenofens

Starttemperatur	50°C	für 1 Minute halten
1. Ebene	20°C / Minute	bis 130°C
2. Ebene	4°C / Minute	bis 180°C
3. Ebene	1°C / Minute	bis 210°C
4. Ebene	20°C / Minute	bis 245°C

Kalibration

Zur Erstellung der Kalibrationskurven der einzelnen Fettsäuren wurde in diesem Versuch eine Mischung von verschiedenen ungesättigten und gesättigten Fettsäuren mit gerader Kohlenstoffanzahl, der so genannte Kalibrationsstandard, verwendet. Mittels einer Reihenverdünnung dieses Fettsäuremixes wurde ein Konzentrationsbereich von 0,07695 $\mu\text{mol/l}$ bis 10000 $\mu\text{mol/l}$ abgedeckt. Zur Korrektur eventueller Fehler bei der Probenvorbereitung oder des Messungsvorganges wurden zu jedem Konzentrationspunkt zwei Interne Standards (IS) hinzugefügt. Zum einen handelte es sich dabei um eine Mischung ungerader gesättigter Fettsäuren (IS1), zum anderen um einen uniform ^{13}C -markierten Algen-Fettsäure-Mix (IS2). Von jedem der verschiedenen Konzentrationspunkte wurden 100 μl derivatisiert, extrahiert und mittels GC/MS gemessen. Nach manueller Auswertung der Messdaten mit den Programmen MassLynx und QuanLynx konnte für jede Fettsäure des Mixes eine gute Kalibrationskurve ($r^2 > 0,99$) mit mindestens sechs Kalibrationspunkten erstellt werden.

Als Beispiel einer solchen Kalibrationskurve dient die Abbildung 8. Diese zeigt die Fettsäure Octadecatriensäure (C18:3n3) mit dem dazugehörigen Korrelationskoeffizienten $r^2 = 0,99915$. Die Konzentrationsbereiche sowie die Korrelationskoeffizienten (r^2) aller bestimmten Analyten sind der Tabelle 11 des Anhangs zu entnehmen. Der unterste Punkt der Kalibrationskurve

ist durch die Bestimmungsgrenze definiert. Dies ist die Konzentration, bei der eine Genauigkeit und Reproduzierbarkeit kleiner 25% und ein Signal-Rausch-Verhältnis größer 10:1 erzielt wurde. Signale unterhalb der Bestimmungsgrenze erlauben keine sichere Quantifizierung der entsprechenden Fettsäure. Der oberste Punkt der Kalibrationskurve gibt an, bis wohin die Kalibration linear ist, wenn dieser Wert unterhalb des höchstkonzentrierten Kalibrationspunktes liegt.

Zwischen den einzelnen Messreihen wurde die bestehende Kalibration stichprobenartig auf Richtigkeit überprüft. Zur Durchführung einer Kalibrationskontrolle (Calcheck) wurde ein beliebiger Kalibrationspunkt gewählt und dreimal derivatisiert, extrahiert und mittels GC/MS gemessen. Aus den drei Messwerten wurden der Mittelwert (Average), die Standardabweichung (Standard Deviation, SD) und die relative Standardabweichung (Relative Standard Deviation, RSD), sowie die Wiederfindungsrate (Recovery) berechnet.

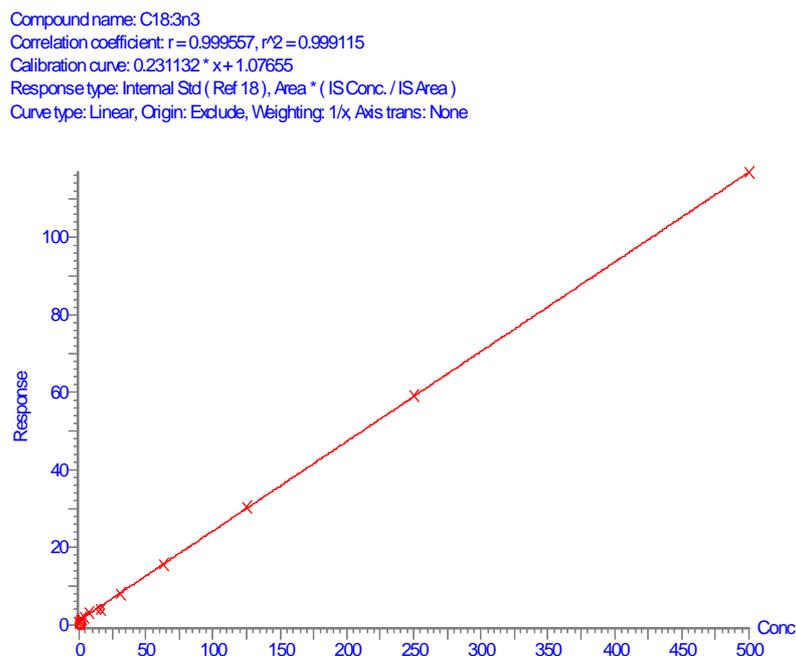


Abbildung 8: Beispielhafte Darstellung einer Kalibrationskurve der Fettsäure Octadecatriensäure (C18:3n3)

3.2.4 Datenerfassung und Auswertung

Die Erfassung, Prozessierung und Wiedergabe der Daten erfolgte mit Hilfe der Software MSD ChemStation der Firma Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA).

Zur Auswertung der Messdaten wurden die Programme MassLynx und QuanLynx V4.1 (Waters Corporation, Milford, MA, USA) verwendet. Mit Hilfe dieser Programme wurden die Konzentrationen in nmol absolut berechnet. Anschließend erfolgte mit Hilfe des Programms Microsoft® Excel 2003 (Microsoft Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland) eine Umrechnung in $\mu\text{mol/l}$. Des Weiteren wurden diese Konzentrationen in das Verhältnis zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen gesetzt (relative Konzentration).

3.2.5 Reproduzierbarkeit der Messergebnisse

Um die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse zu überprüfen, wurde über den gesamten Messzeitraum eine bestimmte Serumprobe (Nr. 135) an verschiedenen Tagen derivatisiert, extrahiert, in das Messsystem injiziert und gemessen. Insgesamt wurden zehn Kontrollmessungen ($n=10$) durchgeführt.

Nach der Auswertung der Konzentrationen der einzelnen Analyten wurde für jede der bestimmten Fettsäuren die relative Standardabweichung (RSD) berechnet und graphisch aufgetragen.

3.2.6 Bestimmung des technischen Fehlers der Messungen

Der technische Fehler (Technical Error of Measurement, TE) dient zur Kontrolle von Unregelmäßigkeiten, die durch die durchführende Person während einer Messreihe entstehen (Goto und Mascie-Taylor 2007). Hierfür wurde die nachfolgende Formel verwendet, wobei d die Differenz der Messwerte eines Duplikates und n die Anzahl der gemessenen Duplikate ist.

$$TE = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

In dieser Arbeit wurden zur Berechnung des technischen Fehlers 27 Proben ($n=27$), die zufällig aus dem Probenpool entnommen wurden, jeweils zwei Mal extrahiert und derivatisiert. Anschließend wurden diese Duplikate mittels GC/MS gemessen und die Ergebnisse des technischen Fehlers für jeden einzelnen Analyten graphisch dargestellt.

3.2.7 Quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren im Serum

Die quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren (NEFA) im Serum erfolgte mit dem NEFA-Kit der Firma Randox Laboratories (Crumlin, England). Hierbei handelt es sich um ein kalorimetrisches Verfahren. Mittels Absorptionsmessung wird die Stärke der Farbreaktion gemessen und anschließend in eine Konzentration mit der Einheit mmol/l umgerechnet. Das Verfahren ist etabliert.

3.2.8 Statistik

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde das Programmpaket SPSS Version 16 der Firma SPSS Inc. (IBM Company, Chicago, IL, USA), SAS (Version 9.2, Cary, NC, USA) sowie das Programm Microsoft® Excel 2003 (Microsoft Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland) genutzt.

Die Überprüfung der Normalverteilung der einzelnen Parameter erfolgte visuell anhand von Histogrammen. Da nicht alle Daten eine Normalverteilung zeigten, wurden nichtparametrische Tests angewandt.

Die Medianvergleiche zwischen uteruskranken und uterusgesunden Tieren wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests durchgeführt. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mittels Boxplots (Abbildung 9). Ein Boxplot besteht aus einem Rechteck, das den so genannten Interquartilsabstand (IQR) wiedergibt. Die Box entspricht dem Bereich, in dem die mittleren 50 % der Datenwerte liegen. Die Linie in der Box entspricht dem Median. Die sogenannten Whisker stellen die Werte, die außerhalb der Box liegen dar. Werte, die 1,5 bis 3,0 Box-Längen von der Box entfernt liegen, werden als Ausreißer bezeichnet und mit „o“ markiert. Bei Werten, die mehr als 3,0 Boxlängen von der Box entfernt liegen, spricht man von Extremwerten. Sie werden im Diagramm mit „★“ gekennzeichnet (Tukey 1977, Kohn 2004, Lehmann 2005).

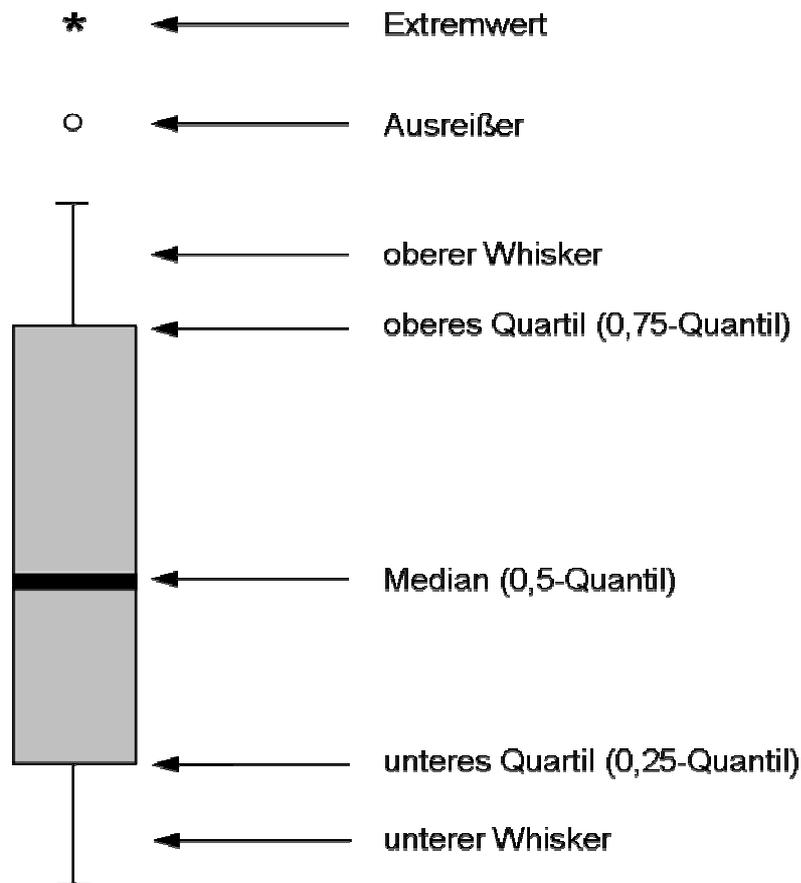


Abbildung 9: Schematische Darstellung eines Boxplots

Der Unterschied zwischen den beiden Tiergruppen wird im Folgenden als signifikant bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $P < 0,05$ ist.

Zusätzlich wurden die zeitlichen Verläufe der Medianwerte der uteruskranken und der uterusgesunden Tiere vergleichend gegeneinander aufgetragen, woraus sich Verlaufskurven ergaben. Die Verläufe zwischen den beiden Gruppen wurden mittels gemischten Modellen (ProcMIXED, SAS) auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Dabei wurde das Tier als zufälliger Effekt mit einbezogen und für wiederholte Messungen innerhalb eines Tieres korrigiert. Nachdem jedoch viele verschiedene Parameter mit Hilfe dieser Modelle untersucht wurden (multiples Testen), wurde eine Bonferroni-Korrektur angewandt und nur Ergebnisse, deren P-Werte unter 0,001 lagen, als statistisch signifikant erachtet.

In den Abbildungen werden signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen durch das Zeichen „#“ gekennzeichnet.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Methodenprüfung

In dieser Studie wurde als Messverfahren die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) angewendet. Hierbei handelt es sich um ein etabliertes Messverfahren. Allerdings wurden bisher keine Konzentrationsmessungen von Fettsäuren an den genutzten Geräten durchgeführt. Daher musste eine Kalibration durchgeführt werden, um zum einen die Konzentrationsbereiche der einzelnen Analyten zu bestimmen (siehe Anhang Tabelle 4), und zum anderen für jeden Analyten eine Kalibrationskurve zu erstellen.

Die Reproduzierbarkeit der biologischen Messungen wurde mittels Mehrfachinjektion (n=10) einer Probe in das Messsystem überprüft. Anschließend wurde der Mittelwert (MW) der Recovery (Wiederfindungsrate), sowie deren Standardabweichung (Standard Deviation, SD) und deren relative Standardabweichung (Relative Standard Deviation, RSD) berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Reproduzierbarkeit der einzelnen Analyten des Kalibrationspunktes 0,1563 mmol/l (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, RSD = Relative Standardabweichung)

Fettsäure	MW der Recovery in %	SD der Recovery	RSD der Recovery in %
C14:0	105,08	1,297	1,2
C16:0	94,49	0,745	0,8
C16:1	99,09	0,429	0,4
C18:0	100,92	1,523	1,0
C18:1n9	93,01	0,528	0,6
C18:2n6	90,76	0,392	0,4
C18:3n3	93,92	2,193	2,3
C20:0	106,28	2,225	2,1
C20:4n6	86,00	0,665	0,8
C22:0	107,54	2,322	2,2
C24:0	115,12	3,278	2,8
C22:6n3	78,60	1,095	1,4
C24:1	102,91	2,448	2,4

4.1.1 Reproduzierbarkeit der Messung biologischer Proben

Keine der in dieser Arbeit gemessenen Fettsäuren wies eine relative Standardabweichung (RSD) größer 10% auf (Abbildung 10). Somit liegen die RSD-Werte der Fettsäuren im Normbereich für biologische Proben und eine Reproduzierbarkeit der Messung ist gewährleistet.

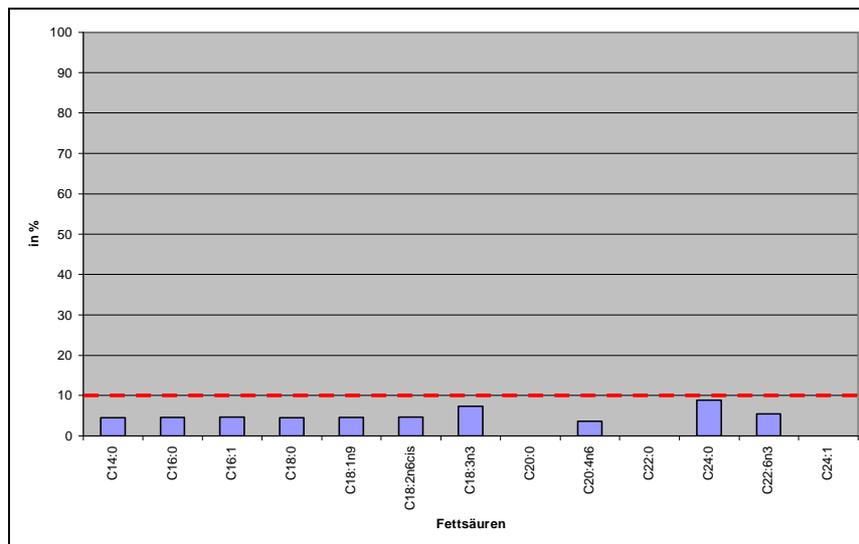


Abbildung 10: Graphische Darstellung der relativen Standardabweichungen der Reproduzierbarkeitsmessungen der Serumprobe 135G, n=10

4.1.2 Technischer Fehler

Der rechnerisch ermittelte technische Fehler lag für alle Analyten zwischen 5 und 15,8 % (Abbildung 11).

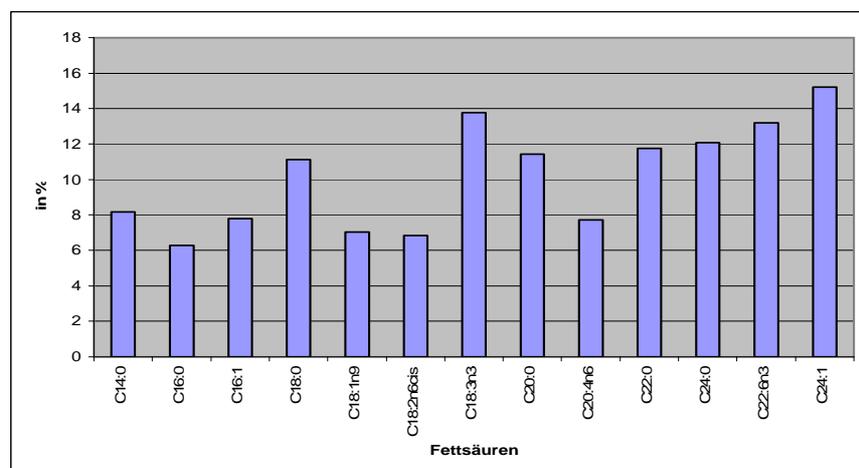


Abbildung 11: Graphische Darstellung des technischen Fehlers in Prozent, n=27

4.2 Bestimmung der Konzentrationen der Fettsäuren

4.2.1 Tetradecansäure

4.2.1.1 Verlauf der Konzentrationen der Tetradecansäure

Antepartal stiegen die Konzentrationen der Tetradecansäure (C14:0) sowohl bei uteruskranken als auch bei uterusgesunden Tieren zur Untersuchungszeit -1 an. Dabei lagen die Mediane der erkrankten Tiere signifikant unter denen der gesunden ($P < 0,05$). Anschließend zeigte sich in beiden Tiergruppen bis zum elften Tag p.p. ein Abfall der absoluten Konzentrationen, dem danach wiederum ein leichter Anstieg folgte (Abbildung 13). Während dieses Zeitraums blieben die Mediane der uteruskranken Kühe ebenfalls unter denen der gesunden. Die Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen waren an den Tagen 11, 21 und 28 p.p. hoch signifikant ($P < 0,01$). Für den Unterschied des Verlaufes über den Gesamtzeitraum ergab sich ein P-Wert von 0,0038 (Abbildung 12).

Der Konzentrationsbereich der Medianwerte der Tetradecansäure erstreckte sich bei uteruskranken Kühen von 22 bis 45 $\mu\text{mol/l}$, bei den uterusgesunden von 30 bis 52 $\mu\text{mol/l}$.

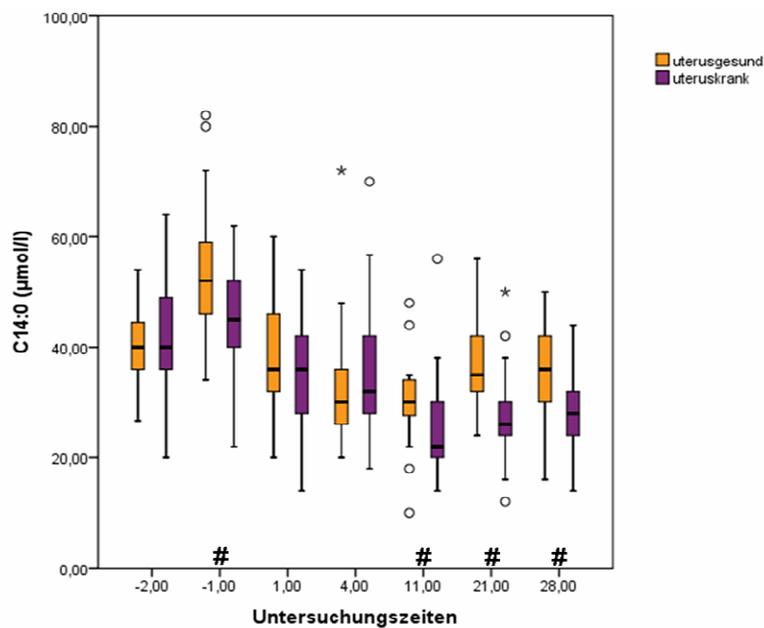


Abbildung 12: Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

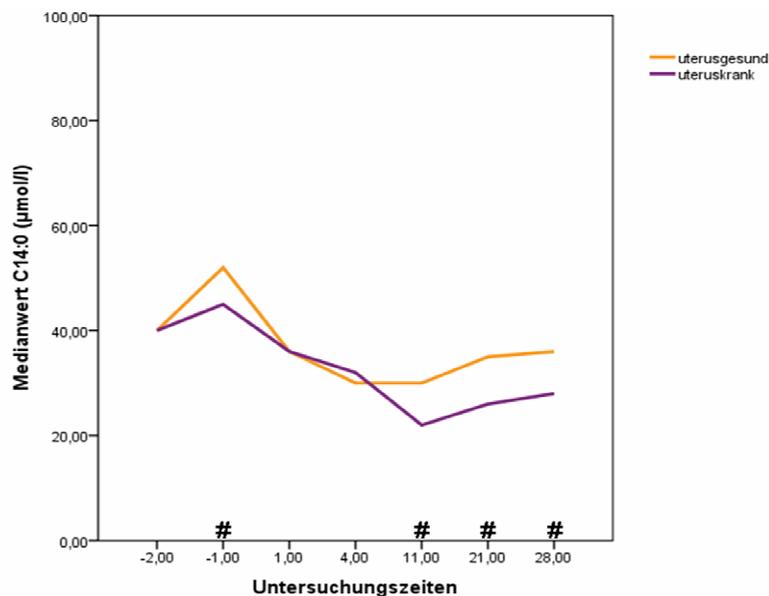


Abbildung 13: Verlauf der Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.1.2 Verlauf der Konzentrationen der Tetradecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Der Verlauf des prozentualen Anteils der Tetradecansäure (C14:0) wies für beide Gruppen um die Kalbung herum einen vorübergehenden Anstieg auf, der bei den uterusgesunden Tieren stärker ausgeprägt war. In beiden Tiergruppen lagen die höchsten Medianwerte zur Untersuchungszeit -1 vor. Danach fielen die Medianwerte in beiden Gruppen wieder ab und am 21. Tag p.p. erreichten beide ähnlich hohe Werte. Die niedrigsten Medianwerte traten bei uteruskranken wie uterusgesunden Kühen am 28. Tag p.p. auf (Abbildung 14). Postpartal lagen die Mediane der gesunden Tiere stets über denen der an Gebärmutterentzündung erkrankten Tiere und zur Untersuchungszeit -1 sowie 1 zeigten sich hoch signifikante Unterschiede ($P < 0,01$). Über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet ergibt sich für den Unterschied der beiden Verläufe ein P-Wert von 0,0064 (Abbildung 15).

Während bei den erkrankten Tieren die Medianwerte der relativen Konzentrationen zwischen 0,63 und 1,17 % lagen, bewegten sich die Medianwerte bei den gesunden Tieren zwischen 0,65 und 1,44 %.

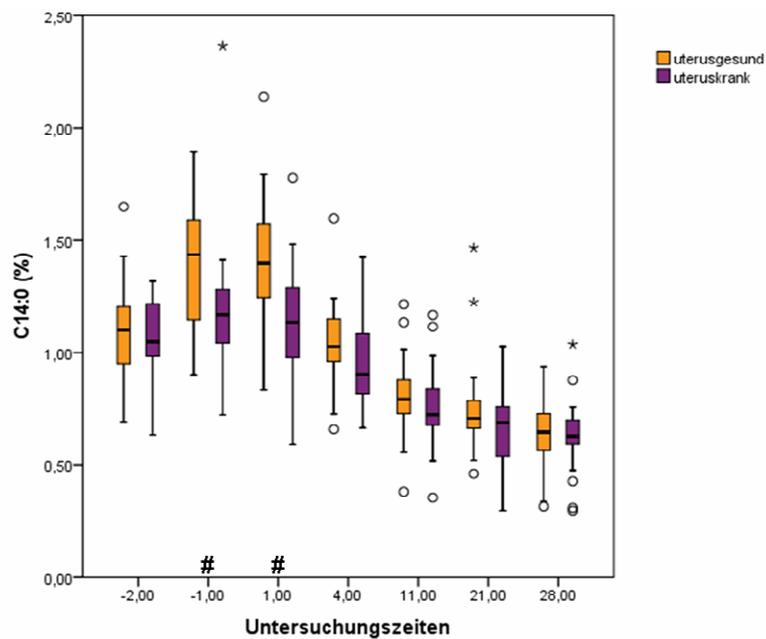


Abbildung 14: Relative Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

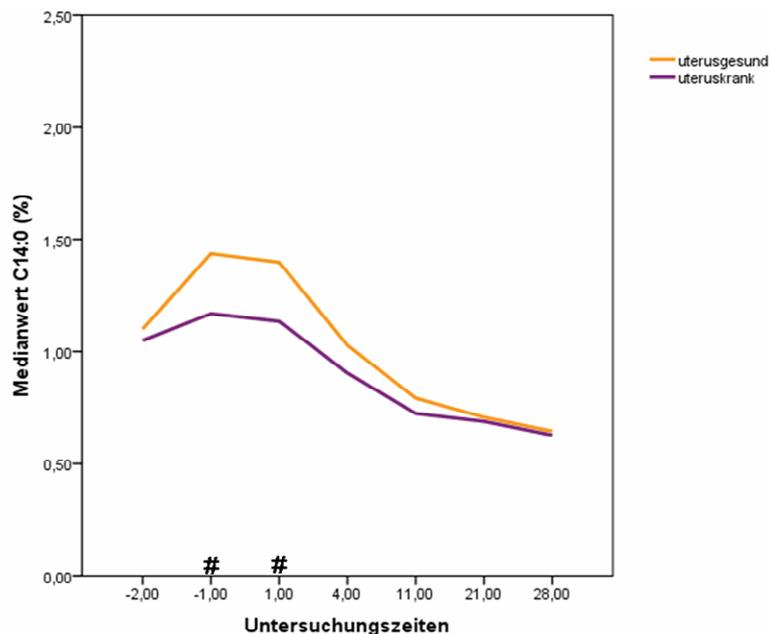


Abbildung 15: Verlauf der relativen Konzentration der C14:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.2 Hexadecansäure

4.2.2.1 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecansäure

Direkt nach der Geburt zeigten erkrankte wie gesunde Kühe einen Konzentrationsabfall der Hexadecansäure (C16:0). Danach stiegen die Werte in beiden Gruppen an und erreichten 28 Tage nach der Kalbung höhere Werte als zur Untersuchungszeit -2 (Abbildung 17). Bei uterusgesunden Tieren trat die geringste Konzentration am Tag 1 p.p. auf, während bei uteruskranken Tieren der geringste Konzentrationswert am Tag 11 p.p erreicht wurde. Bis zum elften Tag p.p. lagen die Mediane bei erkrankten Tieren über denen der gesunden. Für die nachfolgenden Untersuchungszeiten lagen die Mediane der gesunden Tiere höher (Abbildung 16). Postpartal zeigten sich an den Tagen 1 und 4 statistisch signifikante Unterschiede ($P < 0,05$).

Für die C16:0 ergab sich bei uteruskranken Kühen ein Konzentrationsbereich der Medianwerte von 594 bis 794 $\mu\text{mol/l}$ und bei uterusgesunden Tieren von 528 bis 886 $\mu\text{mol/l}$.

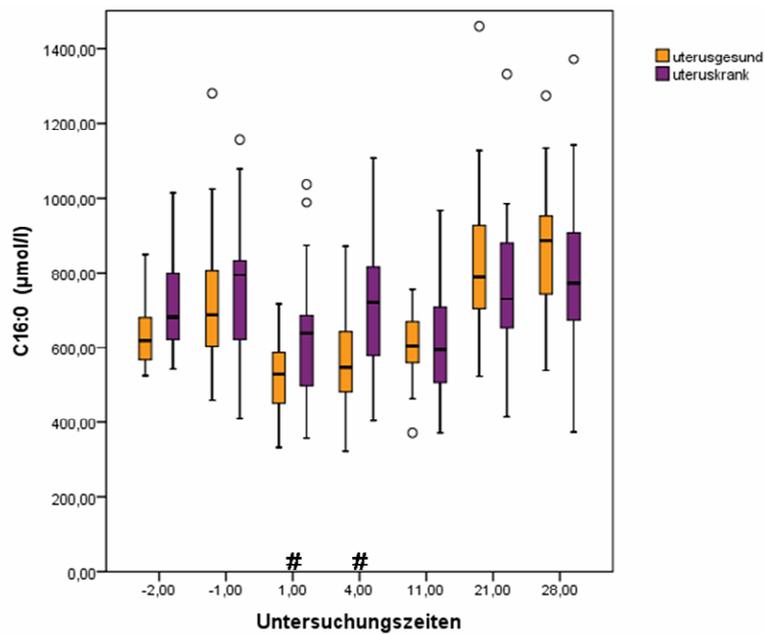


Abbildung 16: Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [P<0,05]).

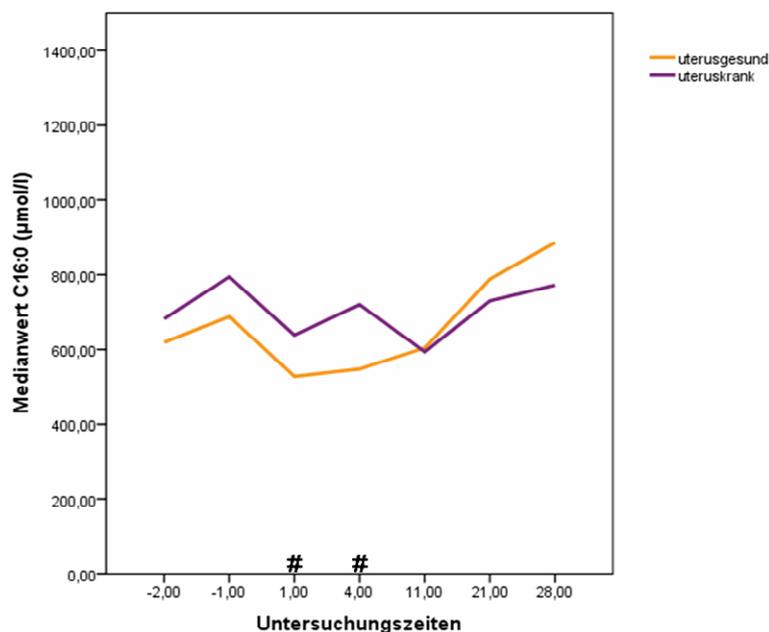


Abbildung 17: Verlauf der Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [P<0,05]).

4.2.2.2 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Der höchste Medianwert der relativen Konzentrationen der Hexadecansäure (C16:0) wurde in beiden Tiergruppen um die Kalbung herum erreicht. Danach fielen die Werte bei uterusgesunden wie uteruskranken Tieren kontinuierlich ab (Abbildung 19). Die zeitlichen Gesamtverläufe beider Tiergruppen waren statistisch signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$). Antepartal lagen die Mediane der relativen Konzentration der C16:0 bei uteruskranken Tieren über den Werten der gesunden ($P < 0,01$). Mit Ausnahme des Tages 1 p.p. zeigten erkrankte Tiere auch postpartal signifikant höhere Medianwerte ($P < 0,01$) (Abbildung 18).

Bei uteruskranken Tieren traten Medianwerte der relativen Konzentrationen zwischen 16,62 und 19,13 %, bei uterusgesunden Tieren zwischen 15,05 und 17,75 % auf.

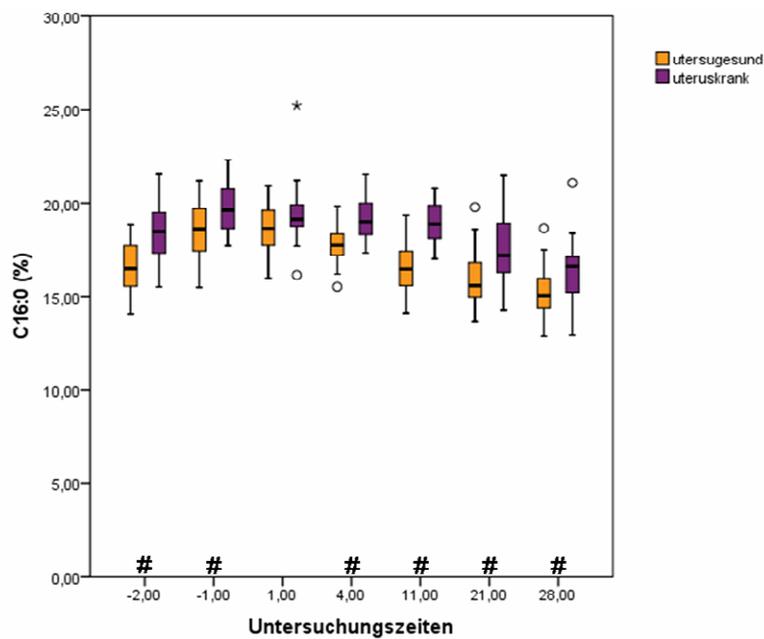


Abbildung 18: Relative Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

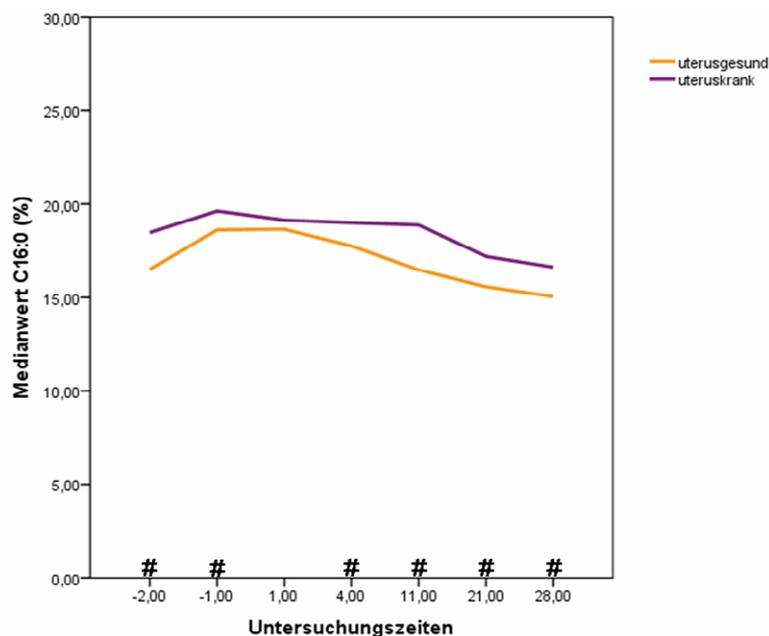


Abbildung 19: Verlauf der relativen Konzentration der C16:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.3 Hexadecaensäure

4.2.3.1 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecaensäure

Bei uteruskranken Tieren zeigten die Mediane der absoluten Konzentration der Hexadecaensäure (C16:1) bis zum vierten Tag p.p. nur geringe Schwankungen. Anschließend sanken die Medianwerte dieser Tiere ab und am elften Tag p.p. wurden die geringsten Konzentrationen gemessen. Diesem Minimum folgte ein erneuter Anstieg der Konzentrationen. Bei gesunden Kühen stiegen die Mediane ab dem elften Tag p.p. an und lagen von da an über denen der uteruskranken Tiere. Die höchsten Medianwerte lagen in beiden Gruppen am 28. Tag p.p. vor (Abbildung 21). Im Gruppenvergleich zeigten sich an den Untersuchungszeiten -2 und 21 signifikante Unterschiede ($P < 0,05$) (Abbildung 20).

Für uterusranke Tiere ergab sich ein Konzentrationsbereich der Medianwerte von 78 bis 106 $\mu\text{mol/l}$ und für uterusgesunde Tiere ein Bereich von 70 bis 134 $\mu\text{mol/l}$.

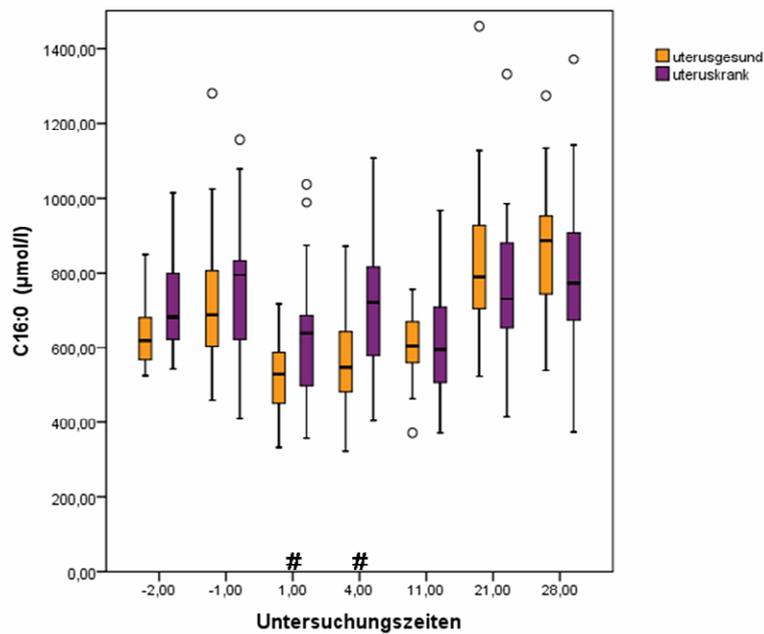


Abbildung 20: Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

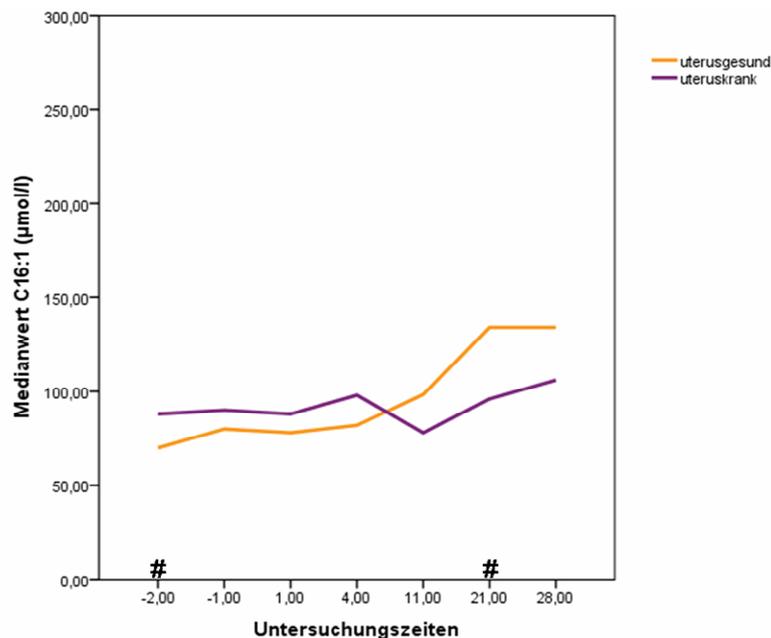


Abbildung 21: Verlauf der Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.3.2 Verlauf der Konzentrationen der Hexadecaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

In beiden Tiergruppen stiegen die Mediane der relativen Konzentration der Hexadecaensäure (C16:1) zum ersten Tag p.p. an. Anschließend zeigte sich bis zum Ende des Untersuchungszeitraums ein leichter Abfall des Verlaufs (Abbildung 23). Zur Untersuchungszeit -2 war ein hoch signifikanter Unterschied zwischen uterusgesunden und uteruskranken Tieren feststellbar ($P < 0,01$) (Abbildung 22). Die Maxima und Minima der Verlaufskurven traten für beide Tiergruppen zu den gleichen Zeitpunkten auf, wobei der Maximalwert bei uteruskranken und uterusgesunden Tiere nahezu gleich war.

Die Medianwerte der relativen Konzentration erstreckten sich bei uteruskranken Tieren von 2,3 bis 2,8 % bei uterusgesunden Tieren von 1,75 bis 2,8 %.

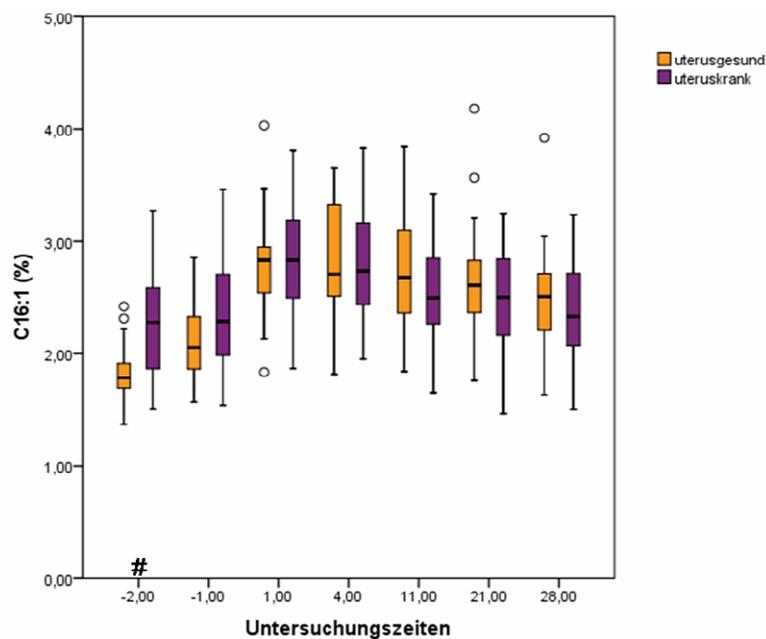


Abbildung 22: Relative Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

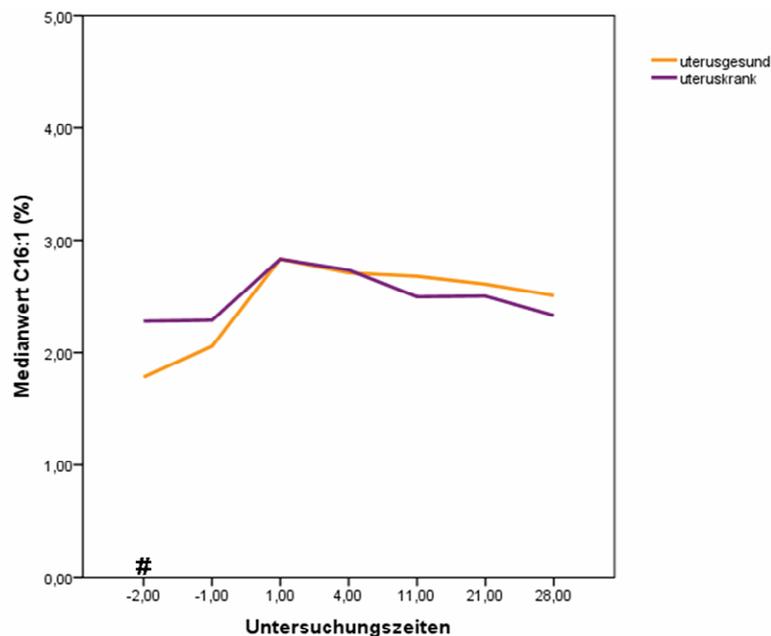


Abbildung 23: Verlauf der relativen Konzentration der C16:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.4 Octadecansäure

4.2.4.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecansäure

Unmittelbar nach der Kalbung kam es in beiden Tiergruppen zu einem Abfall der Konzentrationen der Octadecansäure (C18:0). Bei gesunden Kühen stiegen die Medianwerte nach dem Erreichen des Tiefpunkts am Tag 1 p.p. bis zum Ende des Untersuchungszeitraums stetig an. Bei uteruskranken Tieren zeigte sich bis zum vierten Tag p.p. ein Anstieg gefolgt von einem vorübergehenden Absinken bis zum elften Tag post partum. Danach stiegen die Medianwerte in dieser Tiergruppe wieder an, blieben dabei aber unter den Konzentrationswerten der gesunden Kühe (Abbildung 25). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Konzentrationen von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zeigte sich zu den Untersuchungszeiten 11 und 28 ($P < 0,05$) sowie 21 ($P < 0,01$) (Abbildung 24). Für den gesamten Untersuchungszeitraum ergab sich für den Unterschied der beiden Verläufe ein P-Wert von 0,0205.

Der Konzentrationsbereich der Medianwerte lag bei uteruskranken Tieren zwischen 472 bis 806 $\mu\text{mol/l}$ und bei uterusgesunden Tieren zwischen 453 bis 884 $\mu\text{mol/l}$.

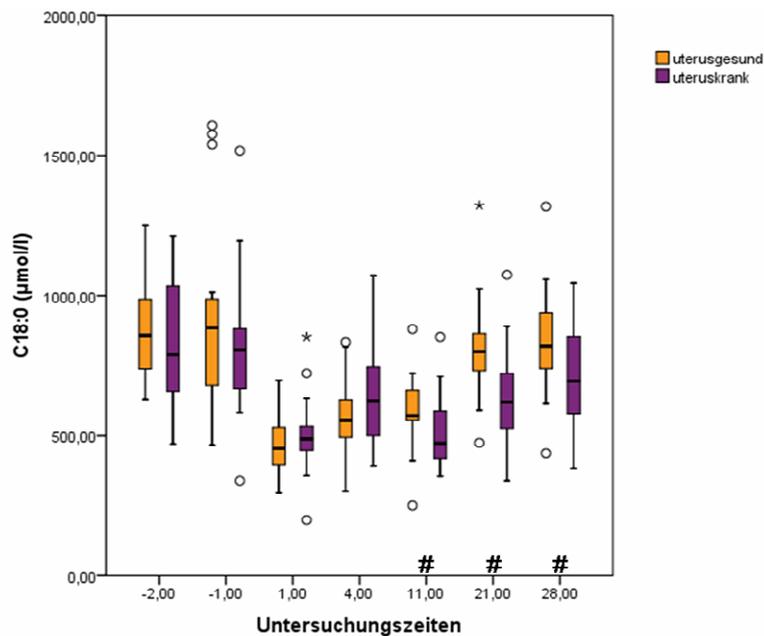


Abbildung 24: Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

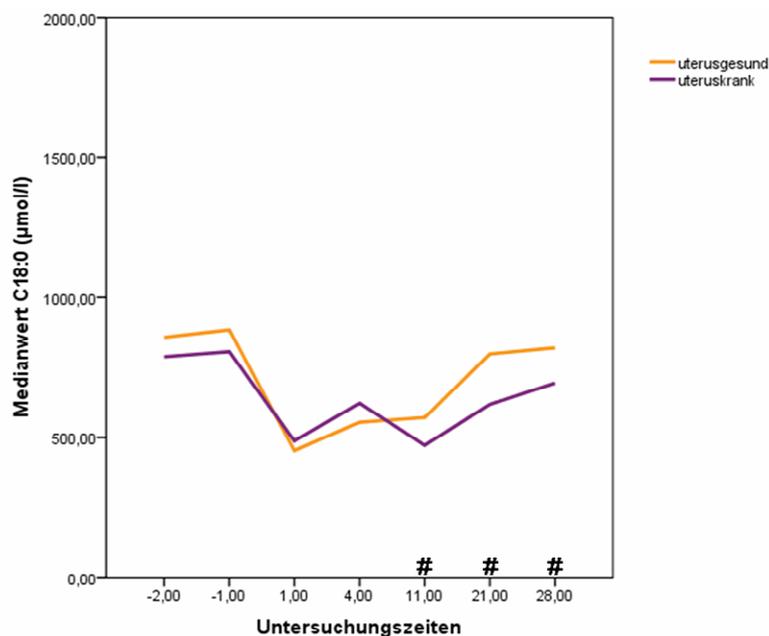


Abbildung 25: Verlauf der Konzentration C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.4.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Für beide Tiergruppen ergab sich ein ähnlicher Verlauf der relativen Konzentrationen der Octadecansäure (C18:0). Mit Ausnahme eines geringen Anstiegs am Tag 4 p.p. bei uteruskranken Tieren fielen die Medianwerte während des gesamten Untersuchungszeitraumes in beiden Gruppen ab (Abbildung 27). Signifikante Unterschiede traten während des Untersuchungszeitraumes nicht auf (Abbildung 26).

Die Medianwerte des relativen Anteils der C18:0 lagen bei uteruskranken Tieren zwischen 14,55 und 21,01 % und bei uterusgesunden Tieren zwischen 15,31 und 22,88 %.

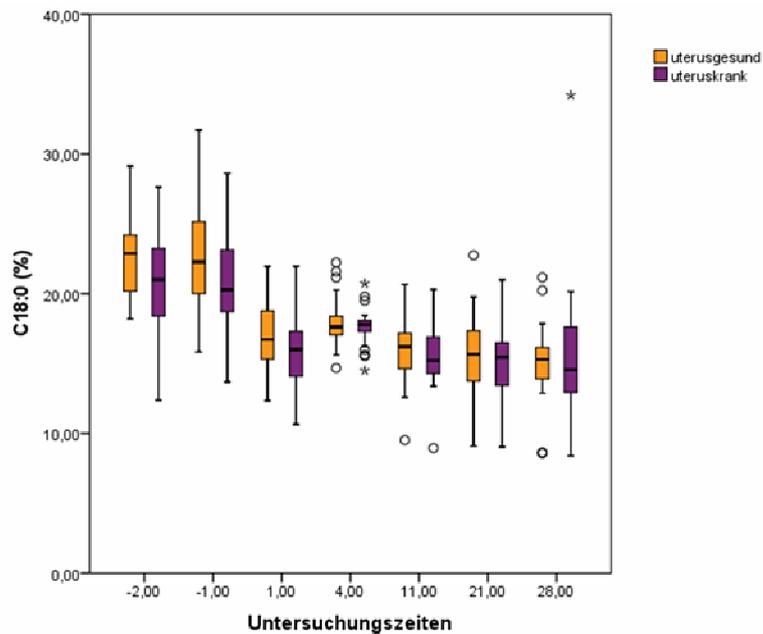


Abbildung 26: Relative Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

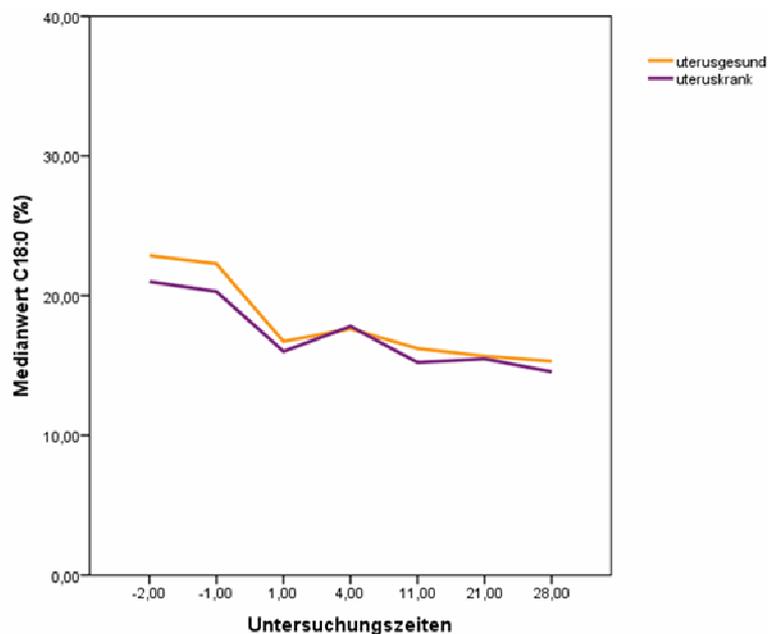


Abbildung 27: Verlauf der relativen Konzentration der C18:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.5 Octadecaensäure

4.2.5.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecaensäure

Während die Mediane der Octadecaensäure (C18:1n9) bei uteruskranken Tiere außer einem geringen Anstieg am Tag 4 p.p. nur geringfügigen Schwankungen unterlagen, sanken diese bei uterusgesunden Tiere zuerst am ersten Tag p.p. ab und stiegen von da an kontinuierlich an (Abbildung 29). Bis zum Tag 11 p.p. zeigten die uteruskranken Tiere höhere Medianwerte, im weiteren Verlauf hingegen waren die Konzentrationswerte der kranken Tiere geringer als die der gesunden (Abbildung 28). Signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen lagen an den Untersuchungszeiten -2, 1 und 4 vor ($P < 0,01$). Bei Betrachtung der Verläufe über den gesamten Untersuchungszeitraum ergab sich für den Unterschied zwischen beiden Verläufen ein P-Wert von 0,0140. Zum Ende des Untersuchungszeitraums nahm die Streuung der Werte in beiden Tiergruppen zu.

Für uteruskranke Tiere ergab sich ein Konzentrationsbereich der Medianwerte von 716 bis 808 $\mu\text{mol/l}$, für uterusgesunde Tiere von 580 bis 862 $\mu\text{mol/l}$.

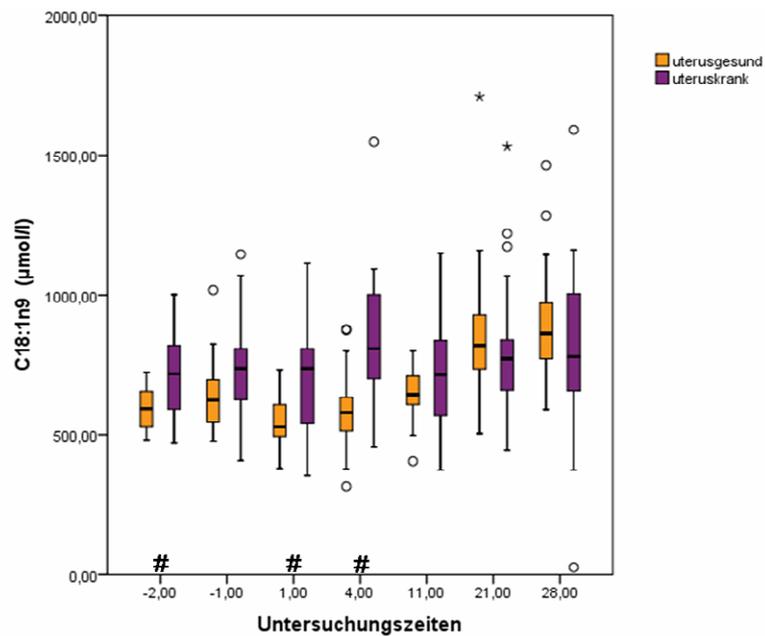


Abbildung 28: Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

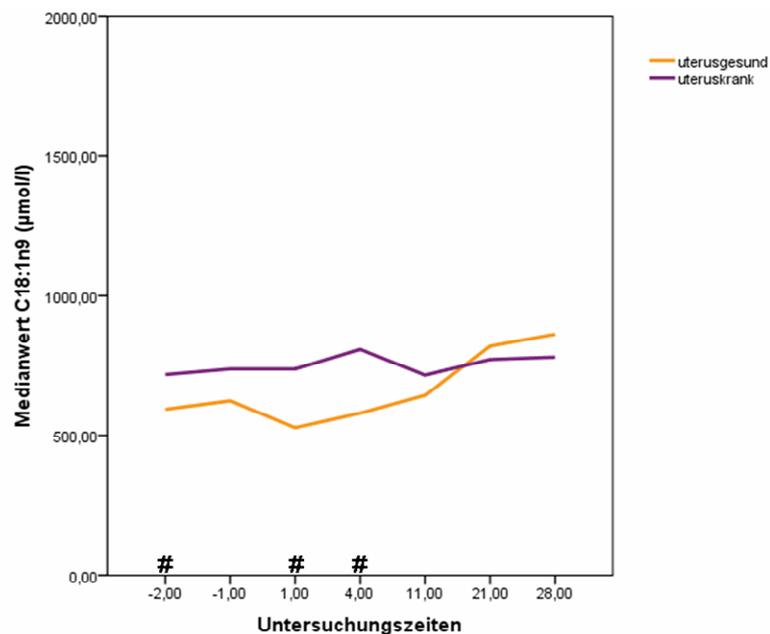


Abbildung 29: Verlauf der Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.5.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

In beiden Tiergruppen kam es bis kurz nach der Kalbung zu einem Anstieg der Mediane der relativen Konzentration der Octadecaensäure (C18:1n9). Während der maximale Medianwert uterusgesunder Tiere am ersten Tag p.p. auftrat, lag dieser für uterusranke Tiere am vierten Tag nach der Kalbung vor. Anschließend fielen in beiden Tiergruppen die Mediane ab (Abbildung 31). An jedem Untersuchungszeitpunkt lagen die Mediane der uterusranke Kühe signifikant höher als die der uterusgesunden ($P < 0,01$) (Abbildung 30). Der Verlauf der Mediane war über den gesamten Untersuchungszeitraum für beide Tiergruppen signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$). Ab dem 21. Tag p.p. zeigten beide Tiergruppen eine stärkere Streuung der Werte.

Bei uterusranke Tieren betrug die Medianwerte der Anteile der C18:1n9 an den Gesamtfettsäurekonzentrationen 16,5 bis 22 %. Bei gesunden Kühen lagen die Medianwerte zwischen 15 und 20 %.

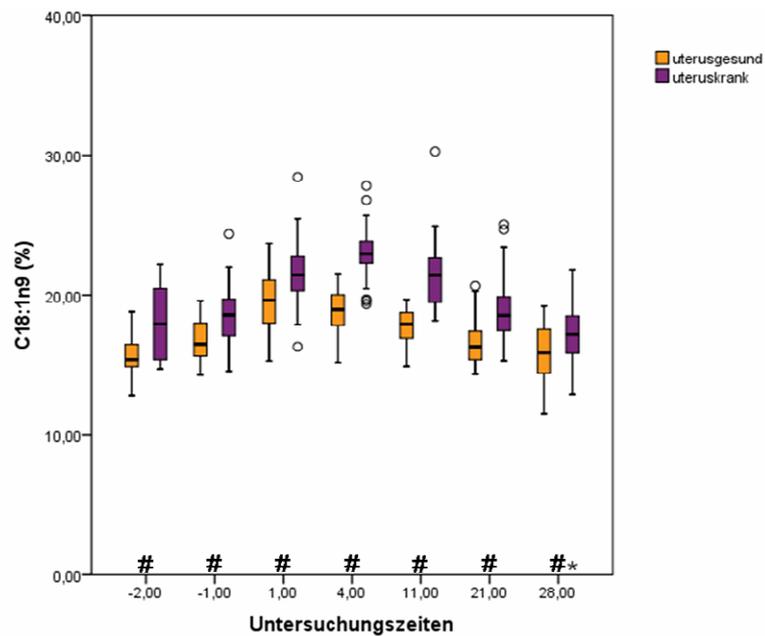


Abbildung 30: Relative Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

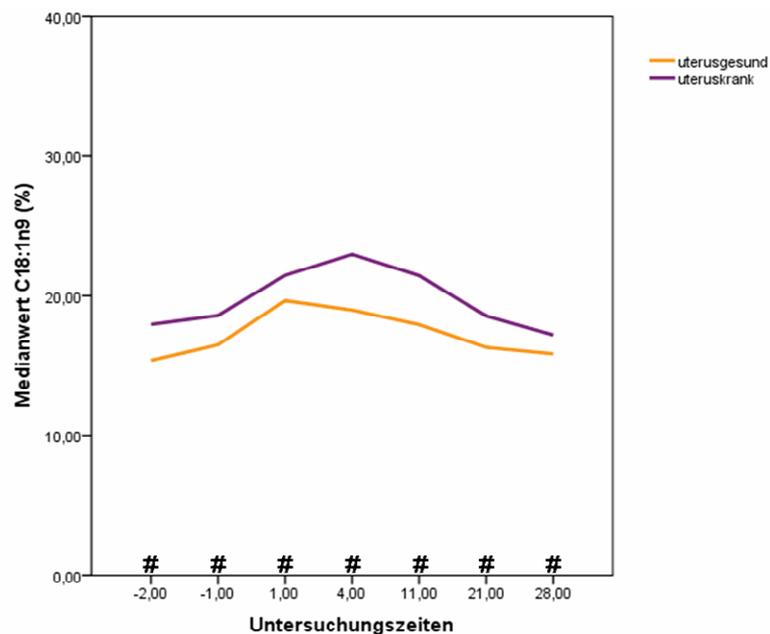


Abbildung 31: Verlauf der relativen Konzentration der C18:1n9 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.6 Octadecadiensäure

4.2.6.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecadiensäure

In beiden Tiergruppen zeigten sich während des Untersuchungszeitraums ähnliche Verläufe der Konzentrationen der Octadecadiensäure (C18:2n6) (Abbildung 33). Bis zum ersten Tag p.p. kam es zu einem leichten Absinken der Medianwerte. Danach stiegen diese in beiden Tiergruppen deutlich an, wobei ab dem elften Tag p.p. diese Zunahme bei den gesunden Tieren stärker ausfiel ($P < 0,01$) (Abbildung 32). Für den gesamten Untersuchungszeitraum ergab sich für den Unterschied der beiden Verläufe ein P-Wert von 0,0043. Gegen Ende des Untersuchungszeitraums war bei uteruskranken wie uterusgesunden Tieren eine stärkere Streuung der Werte zu verzeichnen.

Der Konzentrationsbereich der Medianwerte der an Gebärmutterentzündung erkrankten Tiere erstreckte sich von 984 bis 1940 $\mu\text{mol/l}$. Bei uterusgesunden Kühen lagen die Mediane zwischen 914 und 2562 $\mu\text{mol/l}$.

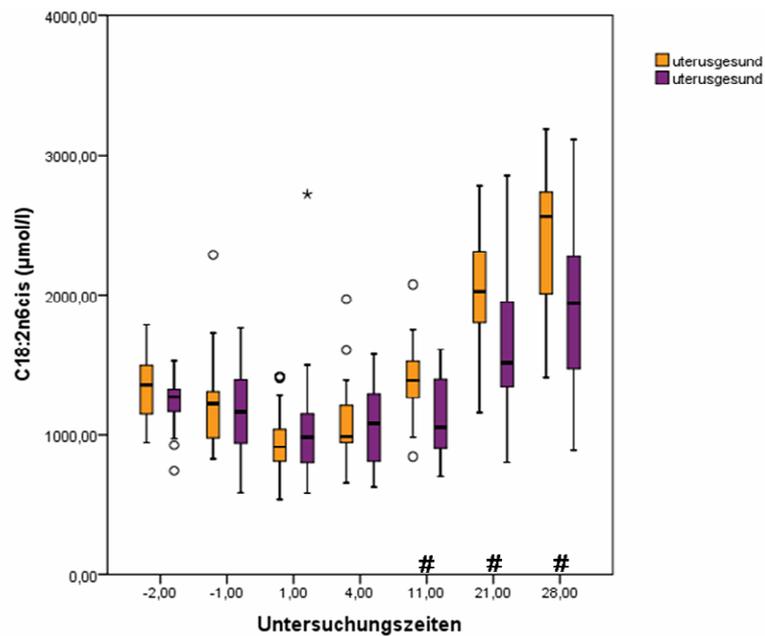


Abbildung 32: Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

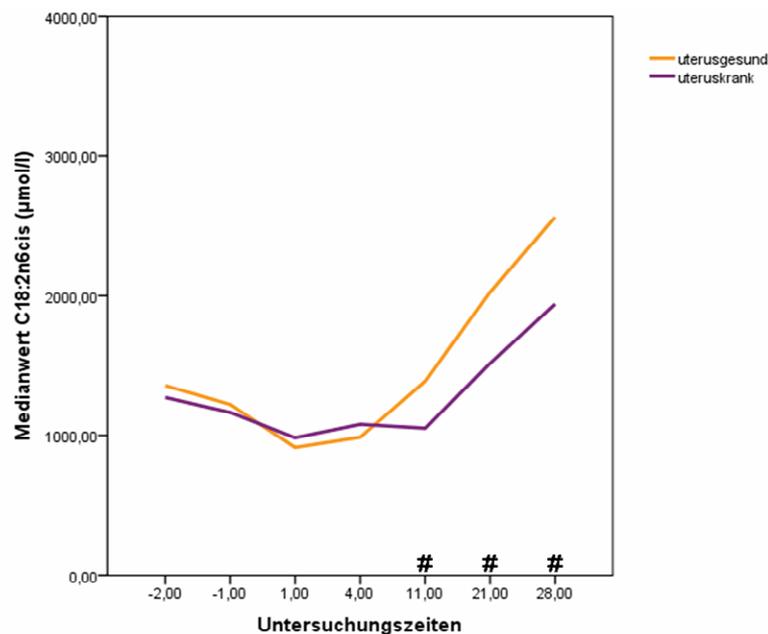


Abbildung 33: Verlauf der Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.6.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecadiensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Bei uterusgesunden Kühen lag der tiefste Medianwert der Octadecadiensäure (C18:2n6) vor der Kalbung, während dieser bei uteruskranken Tieren erst am vierten Tag p.p. auftrat. Nach dem Tag 4 p.p. stiegen in beiden Tiergruppen die Medianwerte der relativen Konzentrationen der C18:2n6 stetig an (Abbildung 34). Zu den Untersuchungszeiten -2, 4, 11, 21 und 28 traten signifikante Unterschiede auf ($P < 0,01$), wobei die Mediane der erkrankten Tiere stets niedriger als die der gesunden waren, d.h. die relativen Konzentrationen der uterusgesunden Tiere stiegen im Vergleich stärker an. Die Gesamtverläufe beider Tiergruppen waren für die Octadecadiensäure signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$) (Abbildung 35).

Die Medianwerte des Anteils der C18:2n6 betragen bei den uteruskranken Tieren 29,72 bis 39,60 % und bei den gesunden Tieren 32,65 bis 42,92 %.

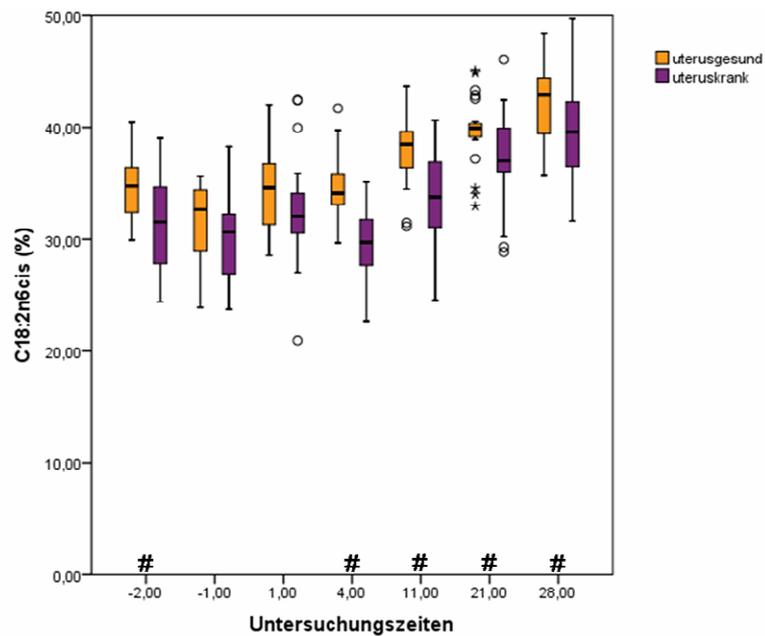


Abbildung 34: Relative Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

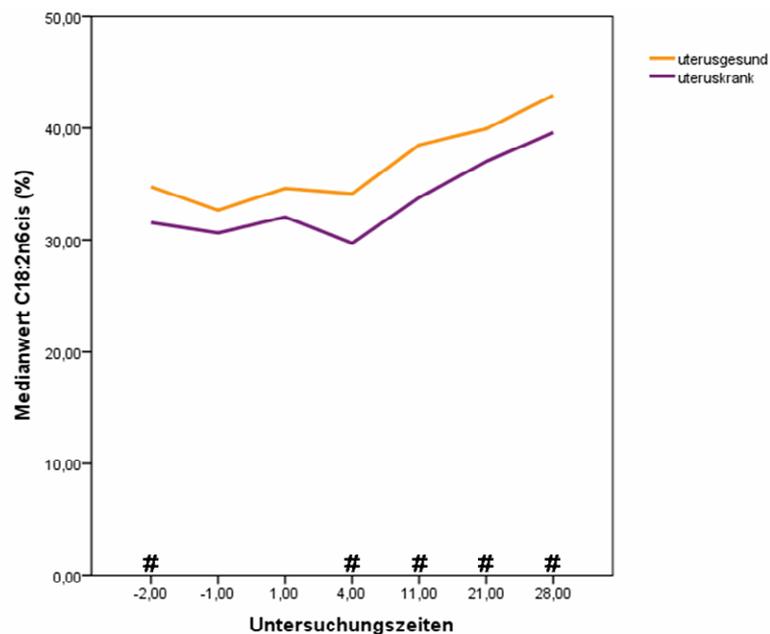


Abbildung 35: Verlauf der relativen Konzentration der C18:2n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.7 Octadecatriensäure

4.2.7.1 Verlauf der Konzentrationen der Octadecatriensäure

In beiden Gruppen zeigte sich zu Beginn des Untersuchungszeitraums ein Abfall der Mediane der Konzentrationen der Octadecatriensäure (C18:3n3). Die Mediane der uterusgesunden Tiere stiegen bereits ab dem ersten Tag p.p. wieder an, während der Anstieg bei den erkrankten Tieren erst ab dem elften Tag p.p. erfolgte (Abbildung 37). Nach dem elften Tag p.p. war die Steigung beider Verläufe ähnlich und die Werte der uterusgesunden Tiere lagen nahezu gleichbleibend über denen der uteruskranken Tiere. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen konnten an den Untersuchungszeiten 11 und 21 ($P < 0,01$) sowie 28 ($P < 0,05$) festgestellt werden (Abbildung 36).

Der Konzentrationsbereich der Medianwerte lag bei erkrankten Tieren zwischen 69 und 168 $\mu\text{mol/l}$ und bei gesunden Tieren zwischen 50 und 236 $\mu\text{mol/l}$.

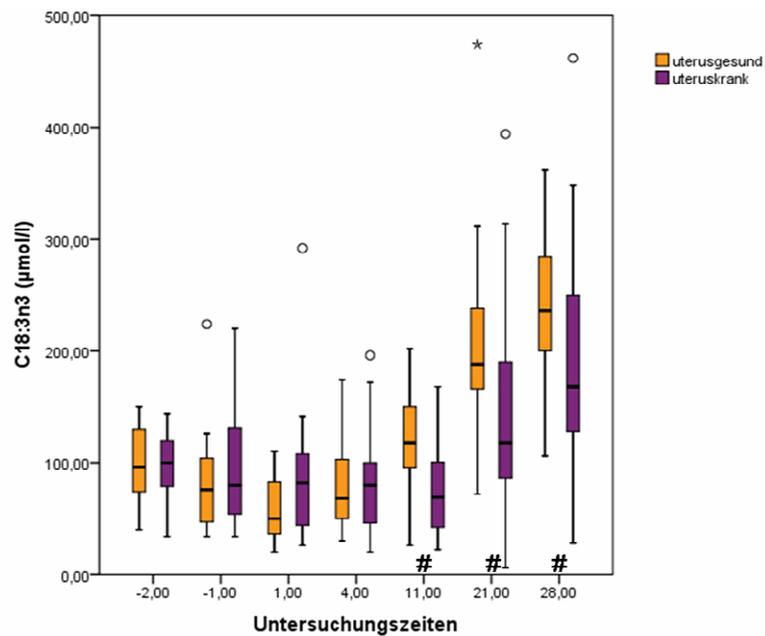


Abbildung 36: Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

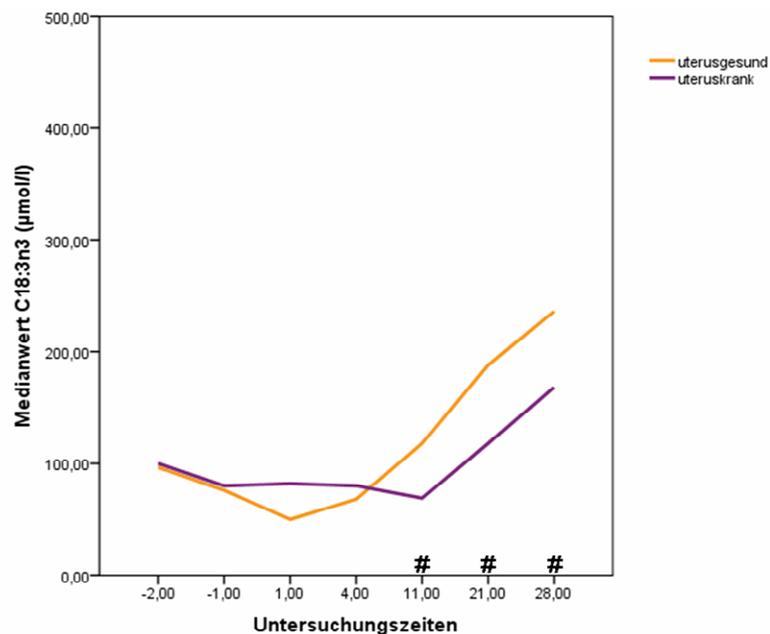


Abbildung 37: Verlauf der Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.7.2 Verlauf der Konzentrationen der Octadecatriensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

In beiden Tiergruppen fielen die Medianwerte der Octadecatriensäure (C18:3n3) bis zum Tag 1 p.p. geringfügig ab. Im Anschluss daran stiegen diese wieder an. Die Verläufe beider Tiergruppen waren sich ähnlich, wobei die Werte der uterusgesunden Kühe, bis auf die erste Untersuchungszeit, durchgehend über den Werten der uteruskranken Kühe lagen (Abbildung 39). Signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen traten an den Tagen 4 und 11 p.p. auf ($P < 0,01$) (Abbildung 38). Für den Unterschied der Verläufe beider Tiergruppen ergab sich ein P-Wert von 0,0158.

Bei uteruskranken Tieren lagen die Mediane während des Untersuchungszeitraums in einem Bereich von 1,21 bis 3,56 %. Bei den gesunden Kühen traten Medianwerte zwischen 1,42 bis 4,12 % auf.

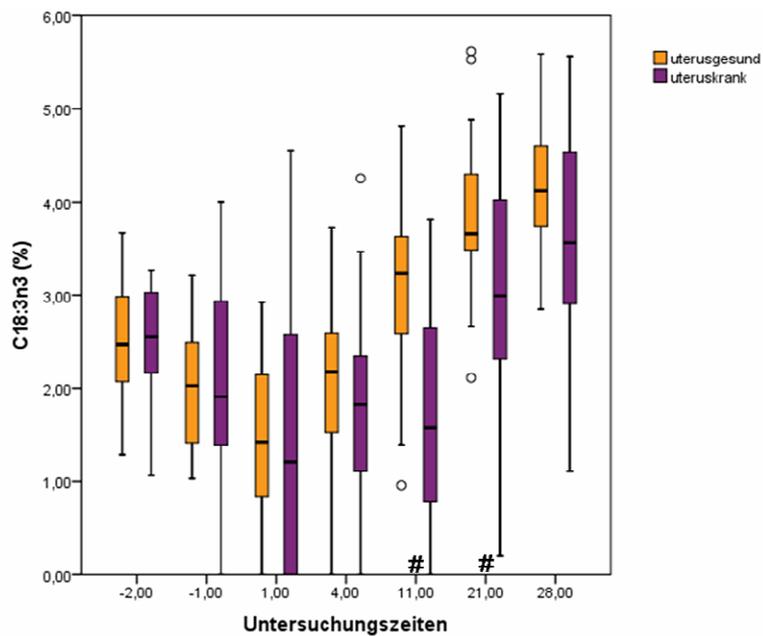


Abbildung 38: Relative Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

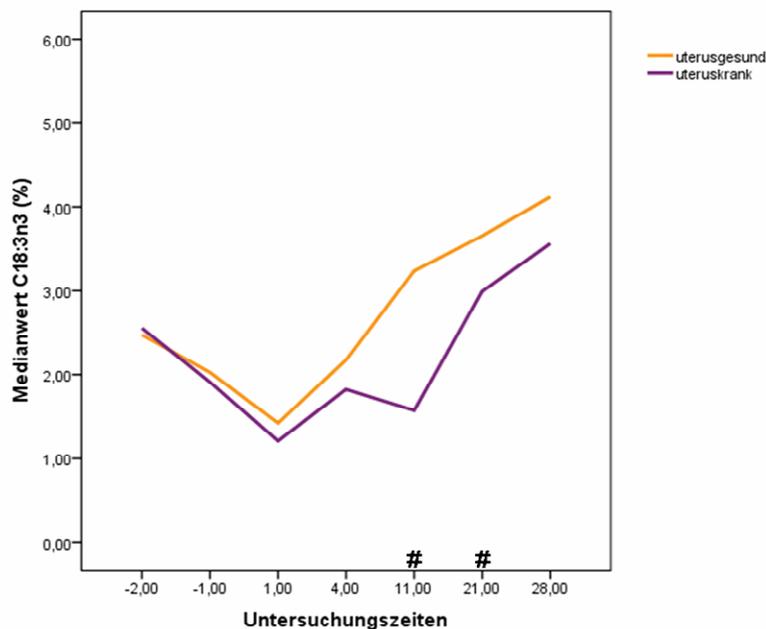


Abbildung 39: Verlauf der relativen Konzentration der C18:3n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.8 Eicosansäure

4.2.8.1 Verlauf der Konzentrationen der Eicosansäure

Die Auswertung der Konzentrationen der Eicosansäure (C20:0) war nur an den Tagen vor der Kalbung möglich. Postpartal lagen die gemessenen Konzentrationen unter dem Limit of Detection (LOD) und waren somit nicht quantifizierbar. Vor der Kalbung konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Eine Aussage über den Verlauf ist nur in sofern möglich, dass die Konzentrationen dieser Fettsäure ab Tag 1 p.p. unter die bestimmbar Konzentrationen abgefallen sind und bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes kein Anstieg über diese Grenze aufgetreten ist (Abbildung 40).

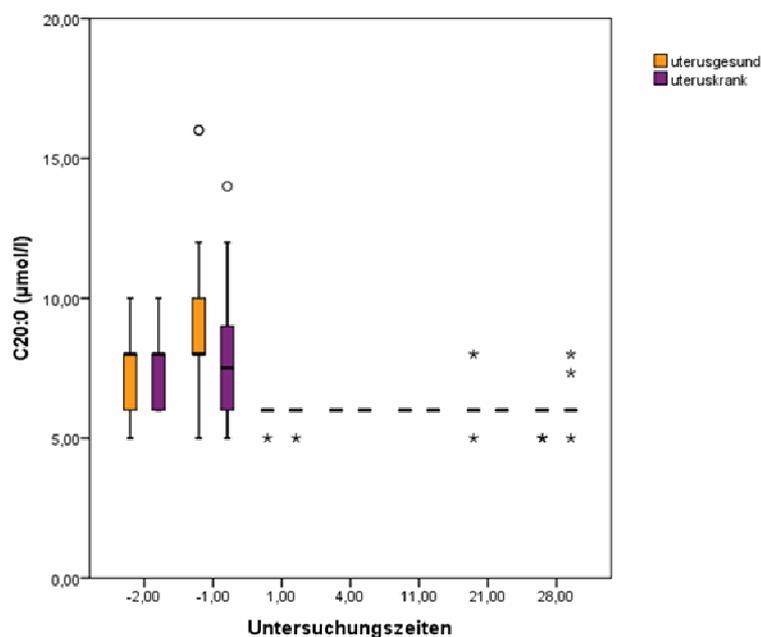


Abbildung 40: Konzentration der C20:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.8.2 Verlauf der Konzentrationen der Eicosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Eine Berechnung der relativen Konzentrationen der Eicosansäure (C20:0) war aufgrund der postpartal nicht messbaren Konzentrationen nicht möglich.

4.2.9 Eicosatetraensäure

4.2.9.1 Verlauf der Konzentrationen der Eicosatetraensäure

Nach der Untersuchungszeit -1 kam es bei uteruskranken wie uterusgesunden Kühen zu einem Konzentrationsabfall der Eicosatetraensäure (C20:4n6). Dabei lagen die Werte der gesunden Kühe unter denen der kranken. Während die Konzentrationswerte der uterusgesunden Tiere ab dem Tag 1 p.p. wieder anstiegen, nahmen die Werte der an Gebärmutterentzündung erkrankten Tiere erst ab dem elften Tag p.p. wieder zu. Bei beiden Tiergruppen stiegen die Konzentrationen bis zum Tag 21 p.p. ähnlich stark an (Abbildung 42). Ab dem 21. Tag p.p. lagen die Werte der uterusgesunden Kühe höher als die der kranken Tiere ($P < 0,05$) (Abbildung 41).

Die Konzentrationen der Mediane bewegten sich bei uteruskranken Tieren zwischen 100 und 136 $\mu\text{mol/l}$ und bei uterusgesunden zwischen 90 und 150 $\mu\text{mol/l}$.

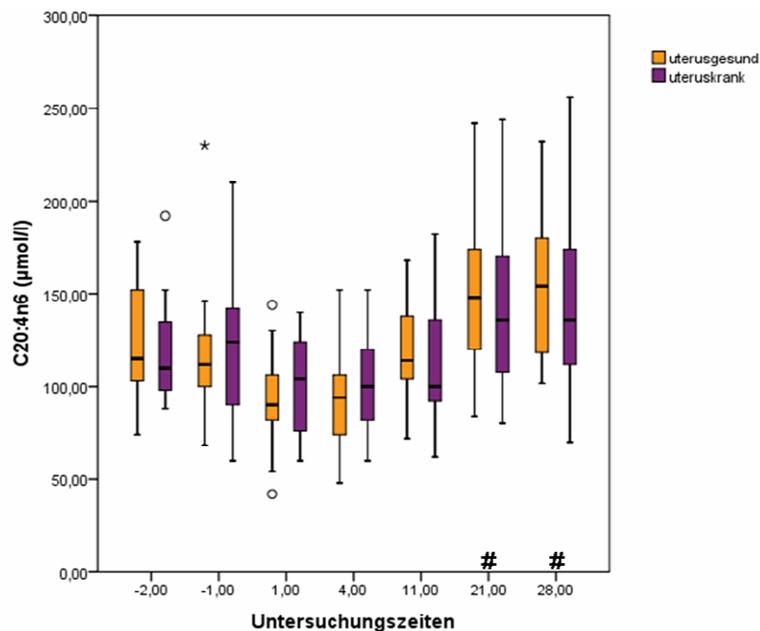


Abbildung 41: Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

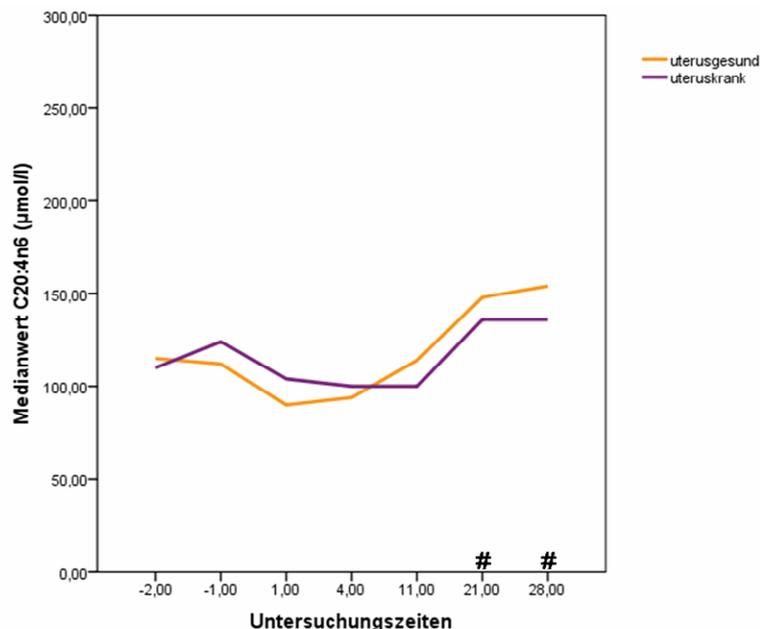


Abbildung 42: Verlauf der Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.9.2 Verlauf der Konzentrationen der Eicosatetraensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Die relativen Konzentrationen der Eicosatetraensäure (C20:4n6) zeigten in beiden Tiergruppen ein ähnliches Verlaufsbild (Abbildung 44). Während am Ende des Untersuchungszeitraums der Anteil dieser Fettsäure bei gesunden Kühen stark abnahm, fiel die Abnahme bei uteruskranken Tieren nicht so stark aus, so dass die Medianwerte der uterusgesunden Kühe ab dem Tag 21 p.p. deutlich unterhalb der Medianwerte der kranken Tiere lagen ($P < 0,05$) (Abbildung 43).

Bei uterusgesunden Kühen lagen die Medianwerte des Anteils der Eicosatetraensäure zwischen 2,60 und 3,35 %, bei uteruskranken Kühen zwischen 2,90 und 3,31 %.

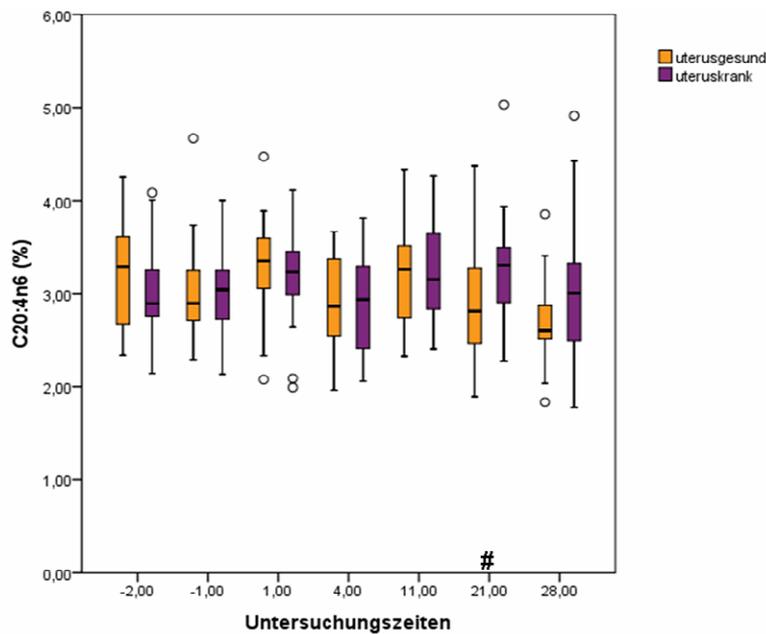


Abbildung 43: Relative Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

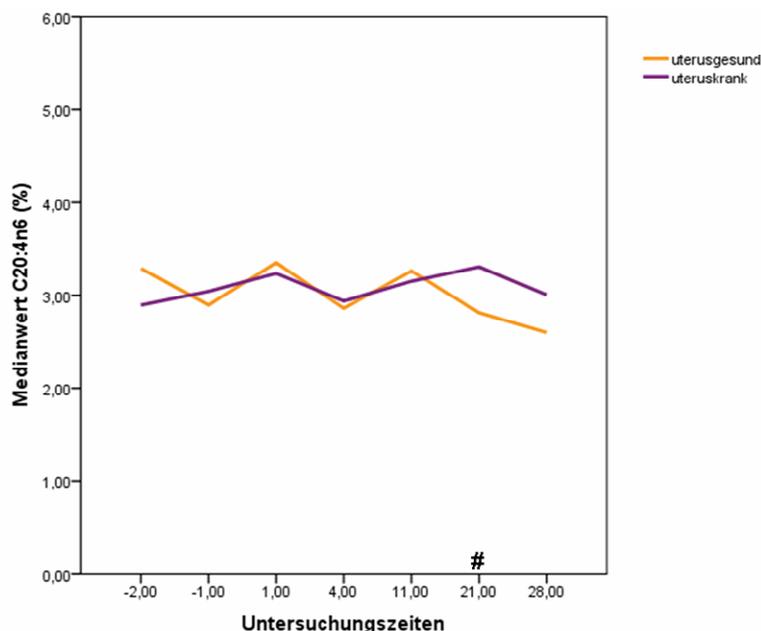


Abbildung 44: Verlauf der relativen Konzentration der C20:4n6 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.10 Docosansäure

4.2.10.1 Verlauf der Konzentrationen der Docosansäure

Die Docosansäure (C22:0) wies in beiden Tiergruppen nur geringe Konzentrationen auf. Im gesamten Verlauf konnten nur geringe Unterschiede zwischen den Gruppen gemessen werden (Abbildung 46). Ein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen uterusgesunden und uteruskranken Tieren zeigte sich nur am ersten Tag p.p. ($P < 0,01$) (Abbildung 45).

Erkrankte Tiere wiesen Medianwerte zwischen 10 und 12 $\mu\text{mol/l}$, gesunde Tiere zwischen 8 und 12 $\mu\text{mol/l}$ auf.

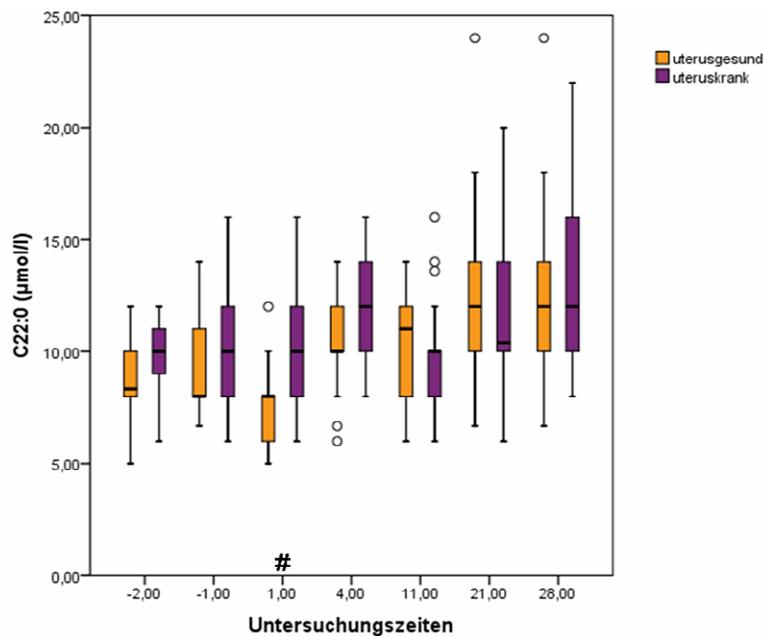


Abbildung 45: Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

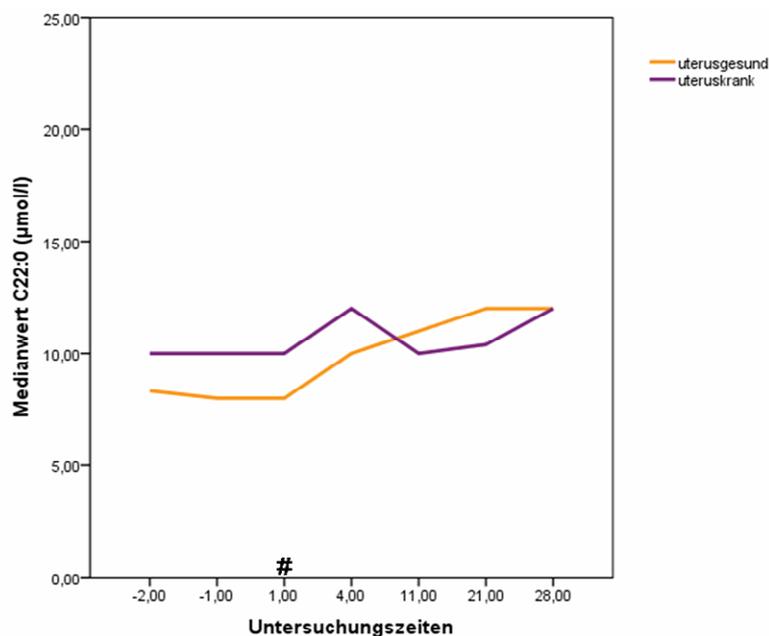


Abbildung 46: Verlauf der Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.10.2 Verlauf der Konzentrationen der Docosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Die Docosansäure (C22:0) wies nur geringe Anteile an der Gesamtfettsäurekonzentration auf. Ein minimaler Anstieg zum Tag 4 p.p. konnte in beiden Gruppen festgestellt werden (Abbildung 48). Signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen zeigten sich für die Untersuchungszeiten 21 ($P < 0,05$) und 28 ($P < 0,01$) (Abbildung 47).

Während bei uteruskranken Kühen die Medianwerte des Anteils der C22:0 an den Gesamtfettsäurekonzentrationen zwischen 0,26 und 0,31 % lagen, zeigten sich bei uterusgesunden Kühen Medianwerte zwischen 0,22 und 0,34 %.

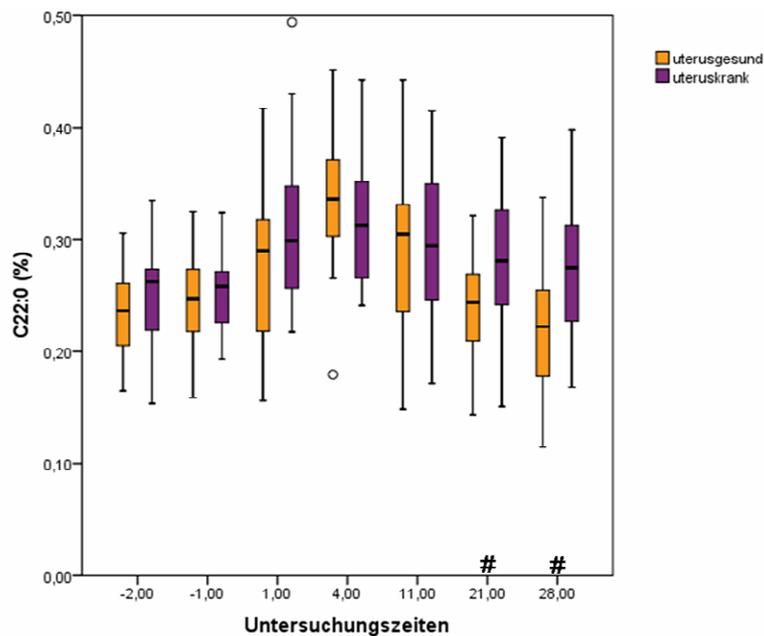


Abbildung 47: Relative Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

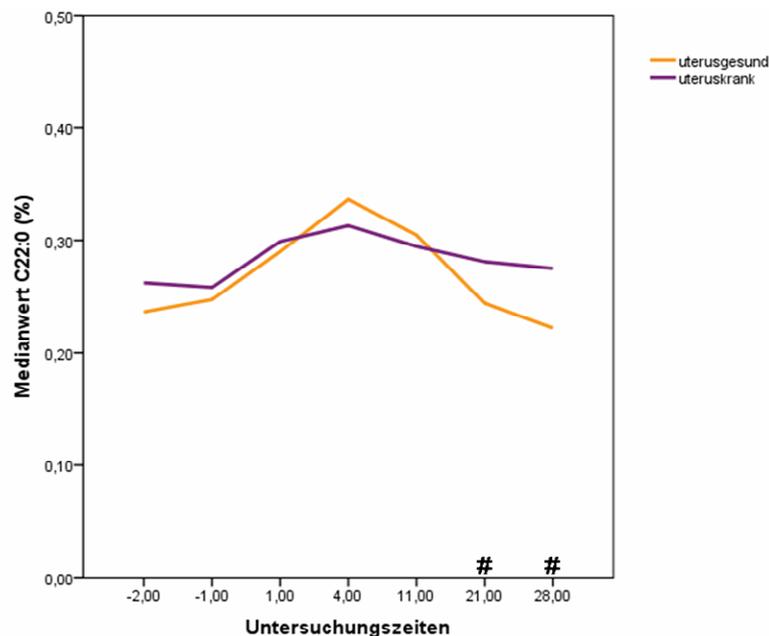


Abbildung 48: Verlauf der relativen Konzentration der C22:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.11 Tetracosansäure

4.2.11.1 Verlauf der Konzentrationen der Tetracosansäure

Für die Tetracosansäure (C24:0) wurden während des gesamten Untersuchungszeitraums nur geringe Konzentrationen gemessen. Im Verlauf der Fettsäurekonzentrationen zeigten sich nur geringe Unterschiede (Abbildung 50). Nur der Anstieg zwischen dem ersten und vierten Tag p.p. zeigte signifikante Unterschiede zwischen uterusgesunden und uteruskranken Tieren ($P < 0,01$) (Abbildung 49).

Erkrankte Tiere wiesen Medianwerte zwischen 10 und 12 $\mu\text{mol/l}$, gesunde Tiere zwischen 8 und 12 $\mu\text{mol/l}$ auf.

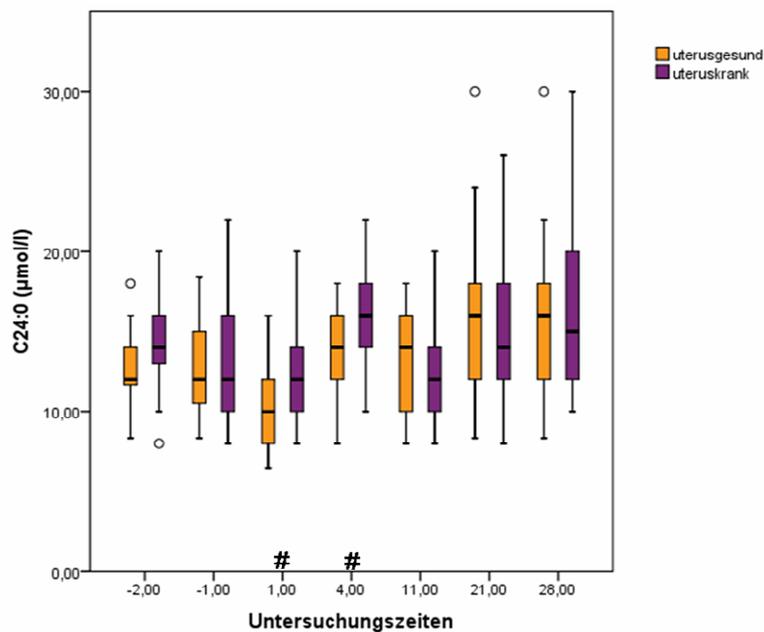


Abbildung 49: Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

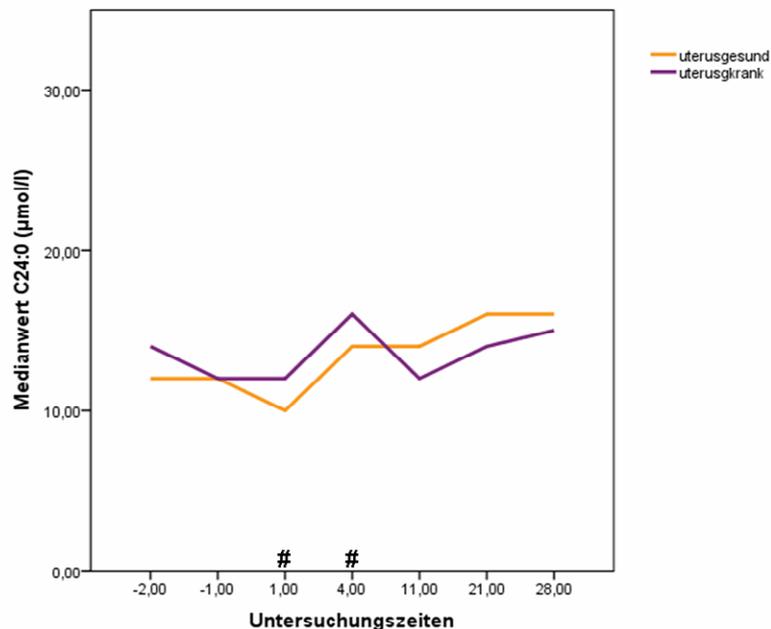


Abbildung 50: Verlauf der Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.11.2 Verlauf der Konzentrationen der Tetracosansäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Zwischen den Untersuchungszeiten -1 und 4 zeigte sich in beiden Tiergruppen ein minimaler Anstieg der relativen Konzentration der Tetracosansäure (C24:0). Der maximale Wert der Mediane lag bei uterusgesunden Tieren höher. Nach dem vierten Tag p.p. sanken die Werte sowohl für gesunde als auch kranke Kühe wieder ab. Ab dem Tag 21 p.p. verliefen die Mediane der gesunden Tiere unterhalb der Mediane der kranken Tiere ($P < 0,05$) (Abbildung 51 und Abbildung 52).

Bei den Tieren, die an Gebärmutterentzündung erkrankten, lagen die Mediane der relativen Konzentrationen zwischen 0,33 und 0,41 %. Bei Tieren ohne Anzeichen einer Erkrankung des Uterus lagen die Medianwerte zwischen 0,29 und 0,45 %.

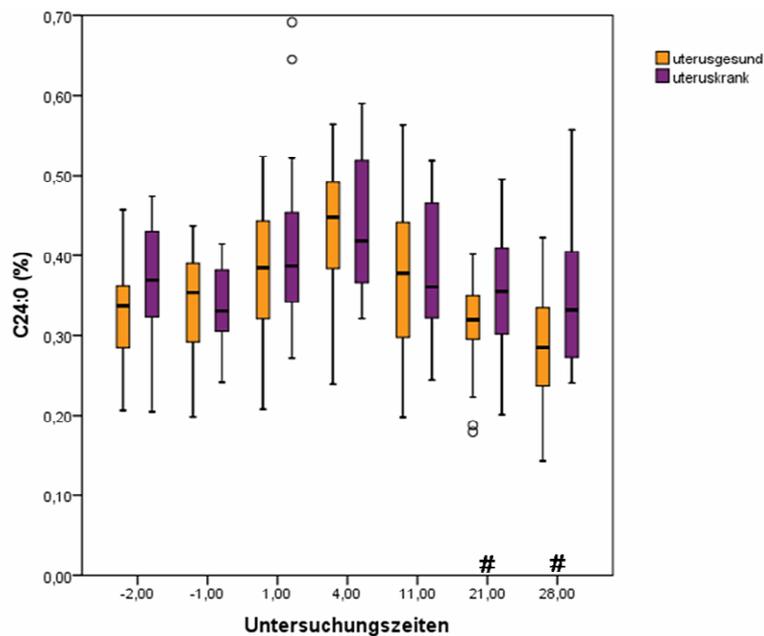


Abbildung 51: Relative Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

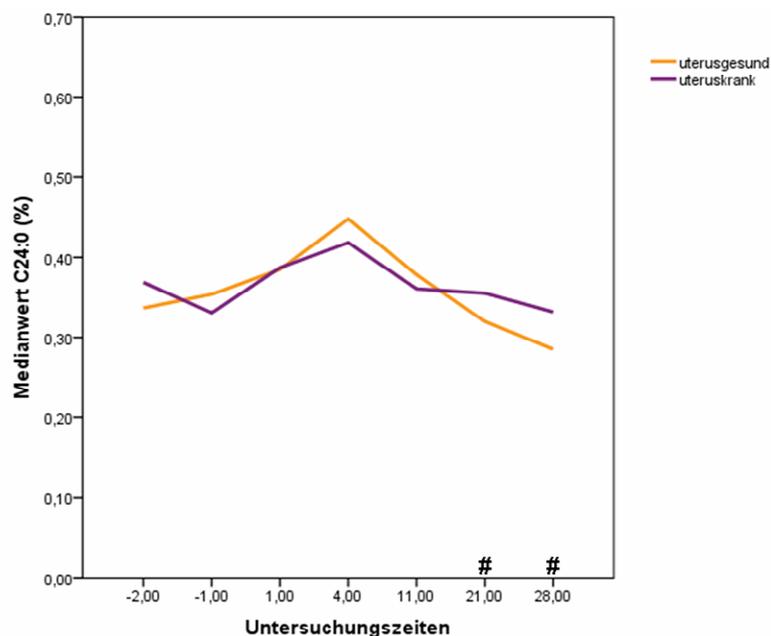


Abbildung 52: Verlauf der relativen Konzentration der C24:0 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.12 Docosahexaensäure

4.2.12.1 Verlauf der Konzentrationen der Docosahexaensäure

Der antepartal beginnende Abfall der Konzentration der Docosahexaensäure (C22:6n3) in beiden Tiergruppen erreichte bei uteruskranken Tieren am elften Tag p.p. und bei uterusgesunden Tieren am ersten Tag p.p. die niedrigsten Medianwerte. Bis zum vierten Tag p.p. traten bei den erkrankten Tieren höhere Medianwerte auf als bei gesunden. Während bei gesunden Tieren die Werte ab dem vierten Tag p.p. stetig bis zum Ende des Untersuchungszeitraums anstiegen, nahmen die Werte der kranken Kühe erst ab dem 21. Tag p.p. zu (Abbildung 53 und Abbildung 54). Lediglich zur Untersuchungszeit -1 traten bei uteruskranken Tieren signifikant höhere Konzentrationen der C22:6n3 auf ($P < 0,05$). Vor allem bei uteruskranken Kühen zeigte sich zum Ende des Untersuchungszeitraums eine stärkere Streuung der Werte.

Der Konzentrationsbereich der Mediane erstreckte sich bei erkrankten Kühen von 28 bis 42 $\mu\text{mol/l}$ und bei gesunden Kühen von 26 bis 52 $\mu\text{mol/l}$.

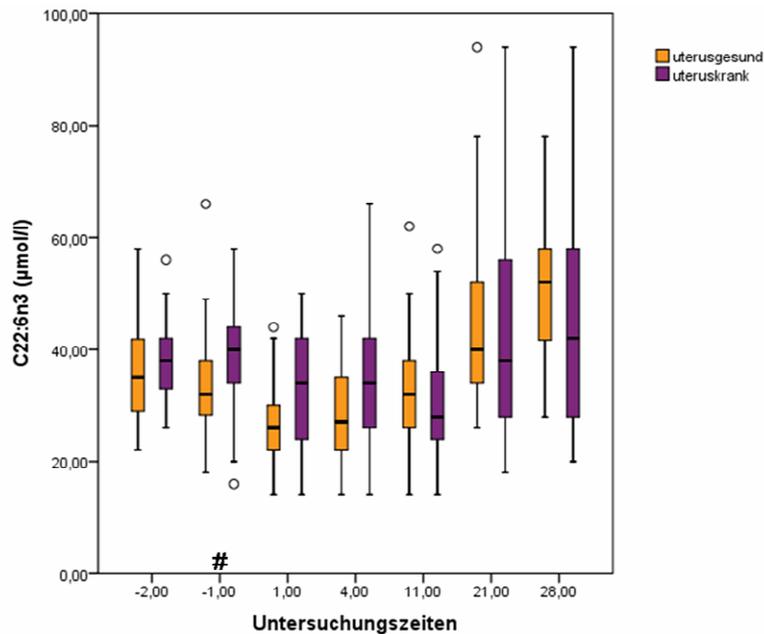


Abbildung 53: Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

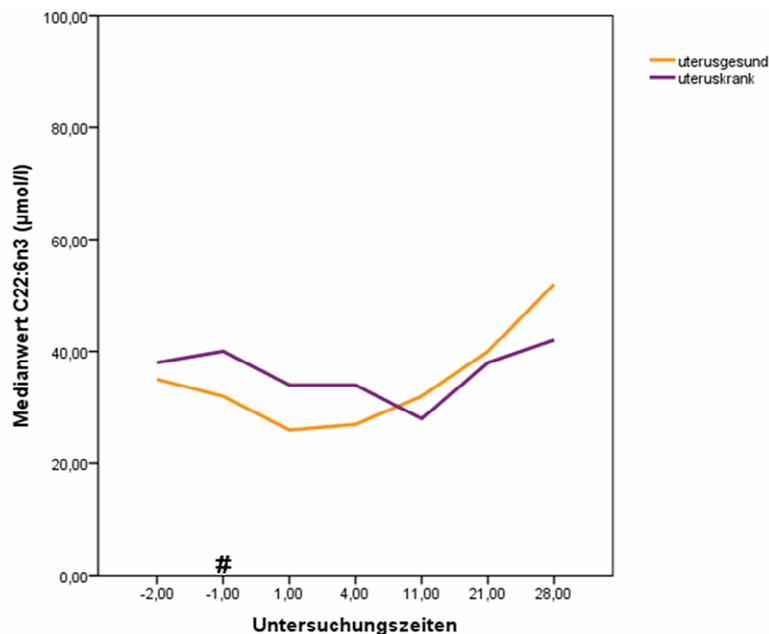


Abbildung 54: Verlauf der Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.12.2 Verlauf der Konzentrationen der Docosahexaensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Der zeitliche Verlauf der Mediane der Docosahexaensäure (C22:6n3) unterlag in beiden Tiergruppen nur Schwankungen in geringem Ausmaß (Abbildung 56). Die Medianwerte des Anteils der C22:6n3 lagen bei den erkrankten Tieren bis auf den elften Tag p.p. höher als bei den gesunden Tieren. Der Unterschied zwischen beiden Tiergruppen fiel jedoch nur zu der Untersuchungszeit -1 signifikant aus ($P < 0,05$) (Abbildung 55).

Die Mediane der relativen Konzentrationen bewegten sich bei uteruskranken Tieren zwischen 0,89 und 1,03 % bei uterusgesunden zwischen 0,82 und 0,95 %.

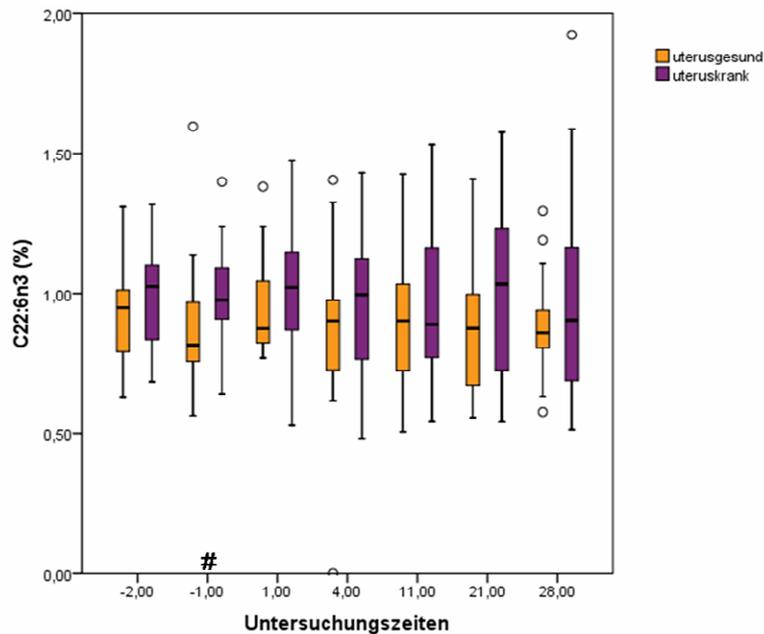


Abbildung 55: Relative Konzentration der C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

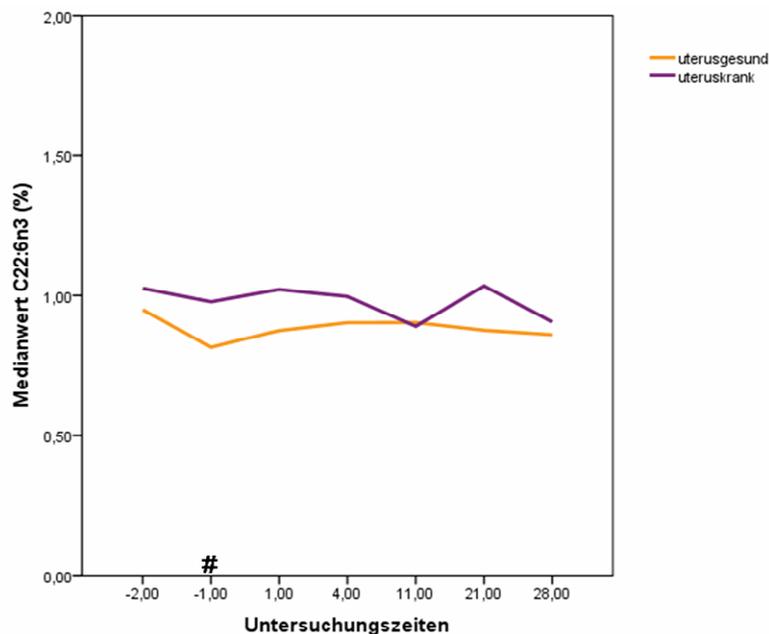


Abbildung 56: Verlauf der relativen Konzentration C22:6n3 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.13 Tetracosensäure

4.2.13.1 Verlauf der Konzentrationen der Tetracosensäure

In beiden Tiergruppen stiegen die Mediane der Tetracosensäure (C24:1) ab dem ersten Tag p.p. an, auch die Streuung der Werte nahm zu (Abbildung 58). Die Medianwerte der kranken Tiere lagen an den Tagen 1 und 4 p.p. signifikant über den Werten der gesunden Tiere ($P < 0,01$) (Abbildung 57). In beiden Tiergruppen nahm ab dem 21. Tag p.p. die Streuung der Werte zu.

Für erkrankte Kühe lagen die Medianwerte innerhalb des Untersuchungszeitraums zwischen 8,0 und 12,0 $\mu\text{mol/l}$, während diese bei gesunden Tieren zwischen 7,33 und 10 $\mu\text{mol/l}$ lagen.

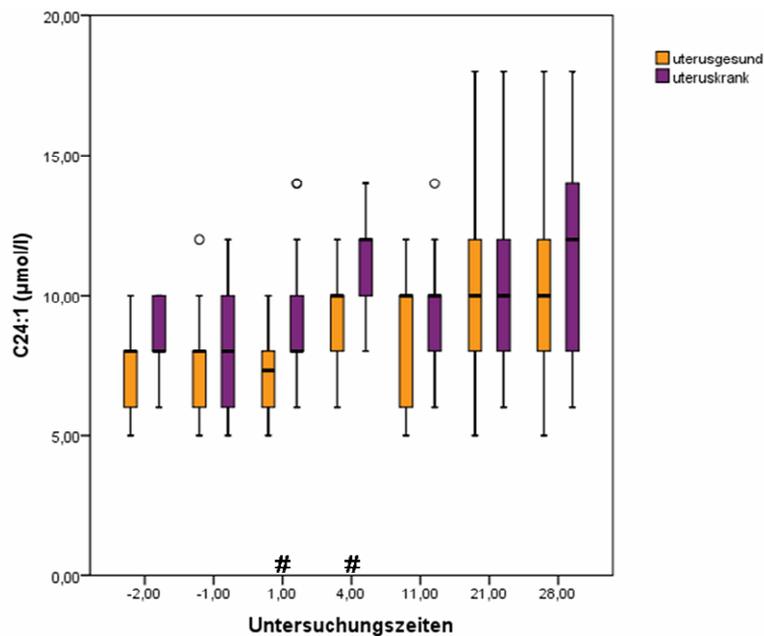


Abbildung 57: Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

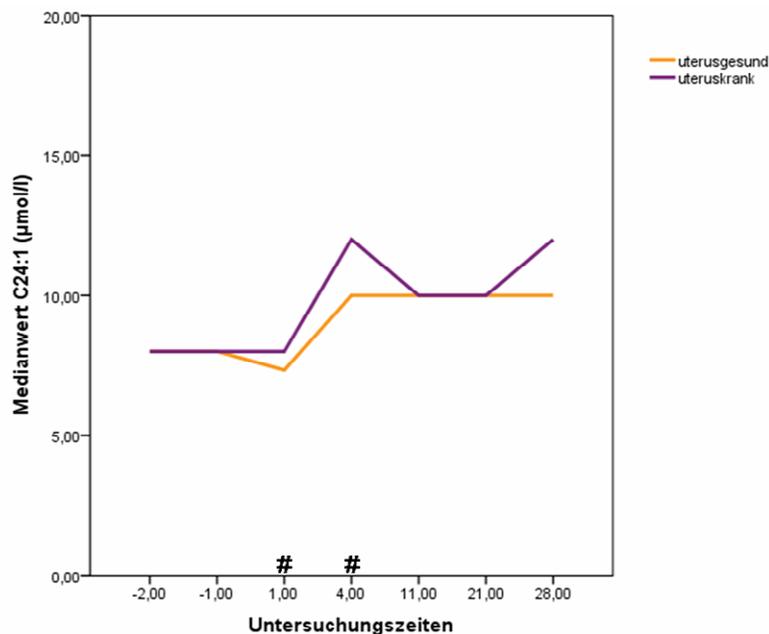


Abbildung 58: Verlauf der Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.13.2 Verlauf der Konzentrationen der Tetracosensäure relativ zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen

Die Verläufe der relativen Konzentration der Tetracosensäure (C24:1) waren für beide Tiergruppen ähnlich. Ab der Untersuchungszeit -1 stiegen die Medianwerte der relativen Konzentrationen in beiden Tiergruppen geringgradig bis zum Tag 4 p.p. an. Anschließend sanken die Werte für beide Tiergruppen wieder ab. Während die Werte der uterusgesunden Kühe bis auf das Ausgangsniveau fielen, blieben die Werte der uteruskranken Kühe ein wenig über dem Ausgangsniveau (Abbildung 60). Jederzeit lagen die Mediane uteruskranker Kühe über denen der uterusgesunden Kühe. Statistisch signifikant waren diese Unterschiede an den Tagen 21 und 28 p.p. ($P < 0,01$) (Abbildung 59).

Die Medianwerte der C24:1 lagen bei erkrankten Kühen zwischen 0,20 und 0,30 % und bei gesunden Kühen zwischen 0,18 und 0,29 %.

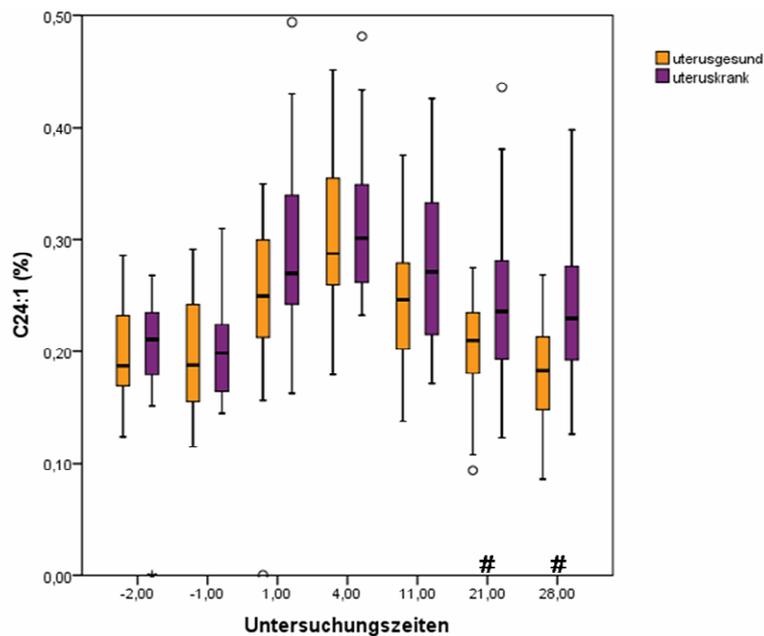


Abbildung 59: Relative Konzentration der C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

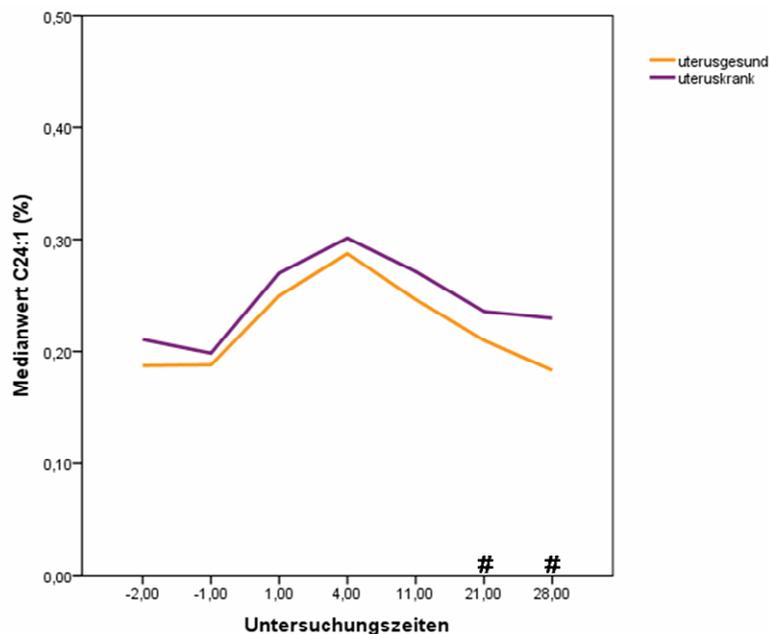


Abbildung 60: Verlauf der relativen Konzentration C24:1 im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.14 Verlauf der Konzentrationen der Gesamtfettsäuren

Die Medianwerte der Konzentrationen der Gesamtfettsäuren sanken zu Beginn des Untersuchungszeitraums ab. Bei uteruskranken Tieren lagen die niedrigsten Medianwerte am elften Tag p.p. vor, bei uterusgesunden Tieren hingegen am ersten Tag nach der Kalbung. Beide Verläufe zeigten nach diesem minimalen Wert einen stetigen Anstieg. Während die Werte der uterusgesunden Kühe ab dem ersten Tag p.p. bis zum Ende des Untersuchungszeitraums anstiegen, nahmen die Werte der kranken Kühe erst ab dem elften Tag p.p. zu. Daher lagen die Werte der gesunden Kühe nach der Untersuchungszeit 11 über denen der kranken ($P < 0,05$) (Abbildung 61 und Abbildung 62).

Die Bestimmung der Konzentrationen der Gesamtfettsäuren ergab für uteruskranke Tiere einen Konzentrationsbereich der Mediane von 3124 bis 4544 $\mu\text{mol/l}$ und bei uterusgesunden Tieren von 2728 bis 5815 $\mu\text{mol/l}$.

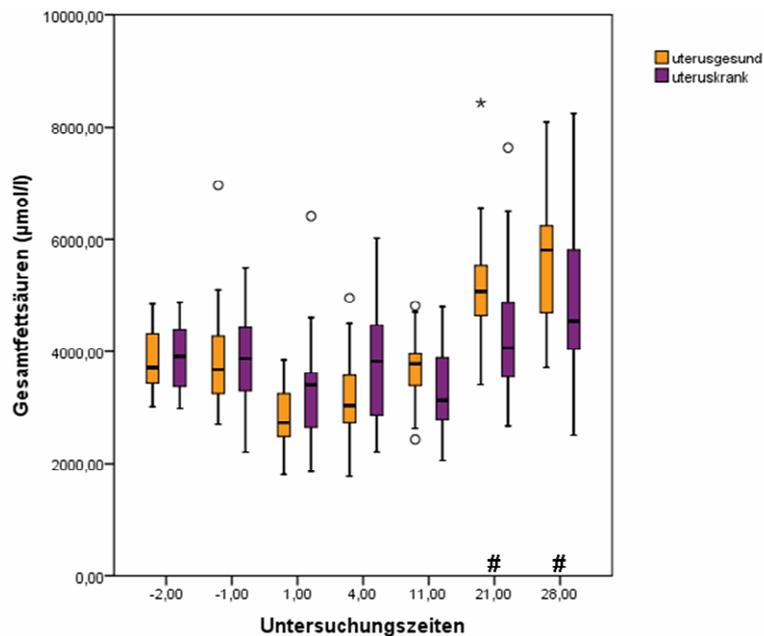


Abbildung 61: Konzentration der Gesamtfettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

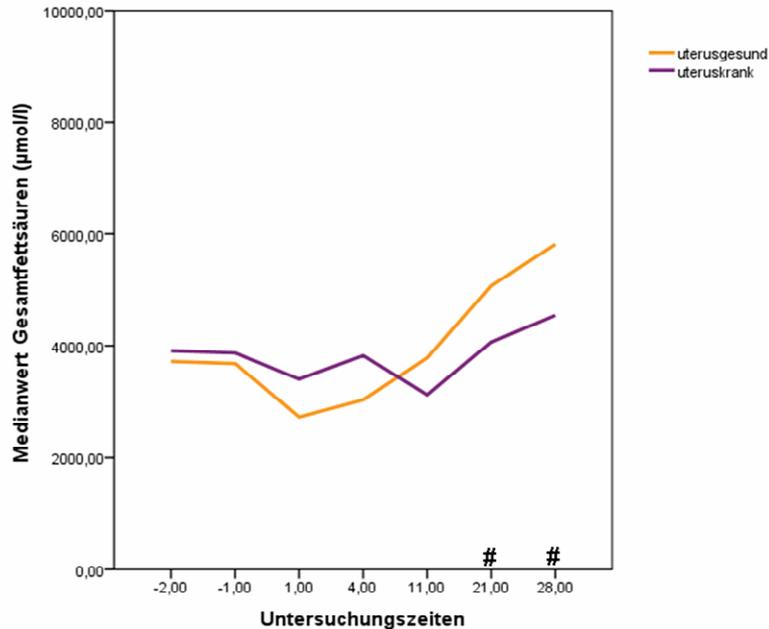


Abbildung 62: Verlauf der Konzentration der Gesamtfettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.2.15 Verlauf der Konzentrationen der freien Fettsäuren (NEFA)

Die Medianwerte der Konzentrationen freier Fettsäuren (NEFA) lagen bei kranken Kühen im gesamten Untersuchungszeitraum über denen der gesunden Tiere ($P < 0,01$). Bereits vor der Kalbung stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen an. Bei uterusgesunden Kühen lag der höchste Medianwert am Tag 1 p.p. vor. Bei uteruskranken Tieren hingegen wurde die höchste Konzentration im gesamten Untersuchungszeitraum am Tag 4 p.p. erreicht. Anschließend fiel die Konzentration in beiden Tiergruppen wieder ab (Abbildung 63).

Mit einer Konzentration von 0,29 bis 0,80 mmol/l lagen die Mediane der erkrankten Tiere während des gesamten Untersuchungszeitraumes deutlich höher als die der gesunden Tiere (0,14 bis 0,38 mmol/l).

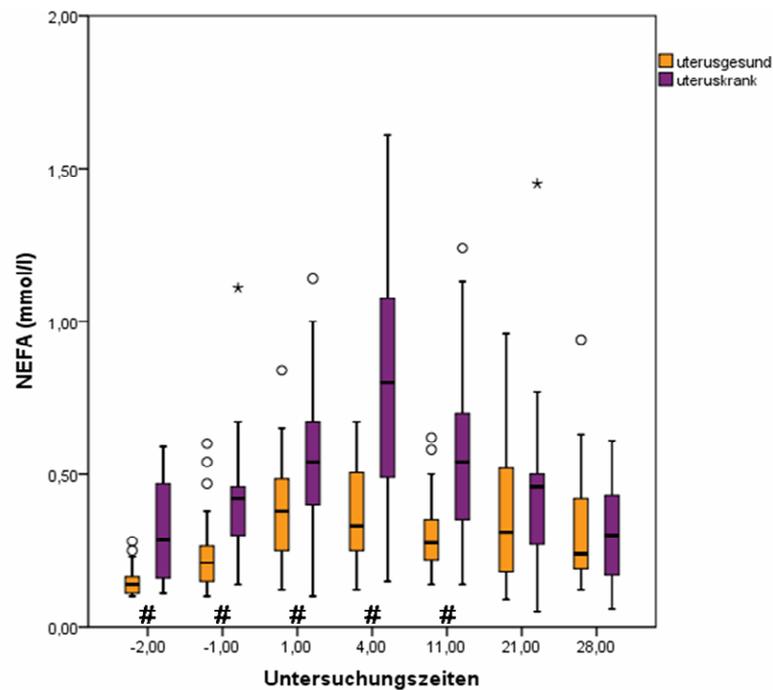


Abbildung 63: Konzentration der NEFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.3 Bestimmung der Fettsäuregruppen

4.3.1 Verlauf der Konzentrationen der gesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren

Die in dieser Arbeit betrachteten gesättigten Fettsäuren (Saturated Fatty Acids, SFA) sind die Tetradecansäure (C14:0), die Hexadecansäure (C16:0), die Octadecansäure (C18:0), die Eicosansäure (C20:0), die Docosansäure (C22:0) sowie die Tetracosansäure (C24:0).

Der Anteil der gesättigten Fettsäuren an der Gesamtfettsäurekonzentration verlief für beide Tiergruppen, über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet, tendenziell abfallend. Bei uteruskranken wie uterusgesunden Kühen zeigten sich die höchsten Medianwerte zu der Untersuchungszeit -1, also kurz vor der Kalbung (Abbildung 65). Bis einen Tag nach der Kalbung lagen die Medianwerte der erkrankten Tiere im Vergleich zu den gesunden niedriger. Ab dem vierten Tag p.p. lagen die Mediane der erkrankten Tiere über denen der gesunden Tiere (Abbildung 64). Ein statistisch signifikanter Unterschied der Konzentrationen der gesättigten Fettsäuren zwischen beiden Tiergruppen trat nur am Tag 11 p.p. auf ($P < 0,01$).

Die Medianwerte der Anteile der gesättigten Fettsäuren bewegten sich in beiden Tiergruppen in einem ähnlichen Bereich (erkrankte Tiere: 32,65 bis 42,15 %, gesunde Tiere: 31,41 bis 42,77 %).

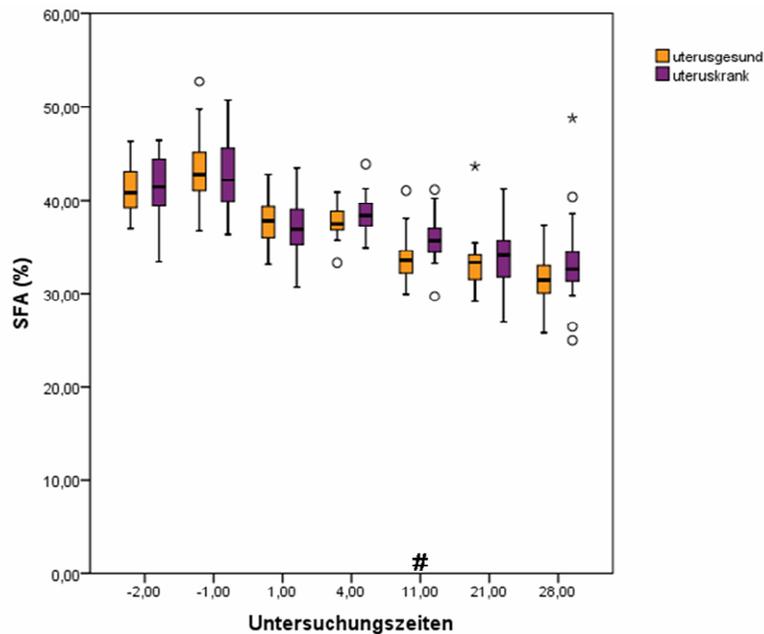


Abbildung 64: Relative Konzentration der SFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

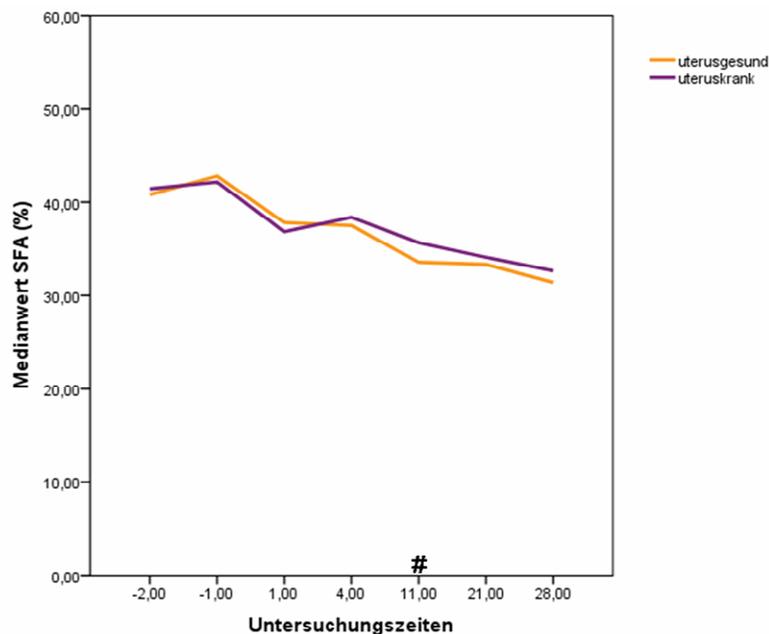


Abbildung 65: Verlauf der relativen Konzentration der SFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.3.2 Verlauf der Konzentrationen der einfach ungesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamfettsäuren

Zu den einfach ungesättigten Fettsäuren (Monounsaturated Fatty Acids, MUFA), die in dieser Arbeit betrachtet wurden, gehören die folgenden Fettsäuren: die Hexadecaensäure (C16:1), die Octadecaensäure (C18:1n9) und die Tetracosensäure (C24:1).

In beiden Tiergruppen stiegen die Medianwerte bis kurz nach der Kalbung an, wobei die Zunahme am größten um den Zeitpunkt der Kalbung herum war. Bei uteruskranken Tieren wurde der maximale Anteil an der Gesamfettsäurekonzentration am Tag 1 p.p. erreicht, während der maximale Medianwert bei den uteruskranken Tieren am Tag 4 p.p. vorlag (Abbildung 67). Danach nahmen die Werte in beiden Gruppen wieder ab und erreichten am Ende des Untersuchungszeitraums in etwa das Niveau der ersten Untersuchungszeit (Abbildung 66). Über den gesamten Zeitraum lagen die Medianwerte der erkrankten Tiere über denen der gesunden ($P < 0,01$). Beide Verläufe waren über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$).

Die Medianwerte der Anteile der einfach ungesättigten Fettsäuren an der Gesamfettsäurekonzentration reichten bei den uteruskranken Tieren von 20,09 bis 26,10 % und bei den uterusgesunden Tieren von 17,39 bis 22,79 %.

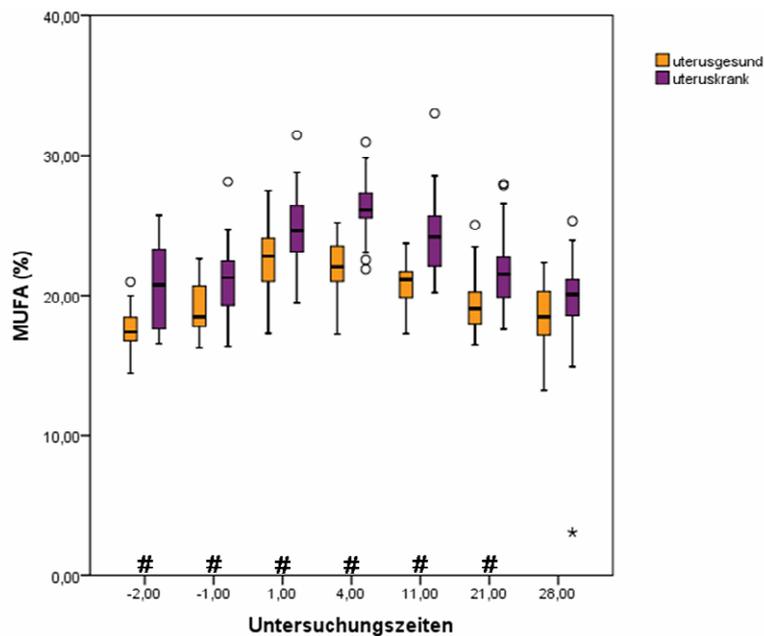


Abbildung 66: Relative Konzentration der MUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

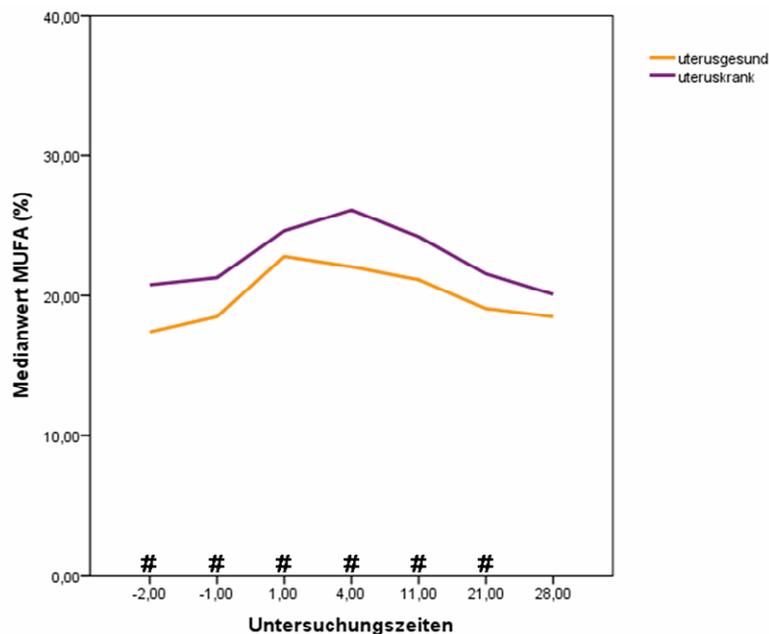


Abbildung 67: Verlauf der relativen Konzentration der MUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.3.3 Verlauf der Konzentrationen der mehrfach ungesättigten Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren

Zu den mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFA), die in dieser Arbeit bestimmt wurden, gehören die Octadecadiensäure (C18:2n6), die Octadecatriensäure (C18:3n3), die Eicosatetraensäure (C20:4n6) und die Docosahexaensäure (C22:6n3).

Sowohl für die an Gebärmutterentzündung erkrankten Tiere als auch für die gesunden ist der Verlauf der Konzentration der mehrfach ungesättigten Fettsäuren relativ zur Gesamtfettsäurekonzentration geprägt von einem leichten Abfall der Werte zur Kalbung hin. Ab dem vierten Tag p.p. zeigte sich in beiden Tiergruppen ein stetiger Anstieg bis zum Ende des Untersuchungszeitraums (Abbildung 69). Über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet waren beide Verläufe signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$). Mit Ausnahme des Zeitraums direkt um die Kalbung lagen die Mediane der uteruskranken Kühe signifikant unter denen der gesunden Tiere ($P < 0,05$) (Abbildung 68).

Die Medianwerte der Anteile der mehrfach ungesättigten Fettsäuren an der Gesamtfettsäurekonzentration lagen bei den uteruskranken Kühen zwischen 35,51 und 47,37 % sowie bei uterusgesunden Tieren zwischen 38,56 und 50,23 %.

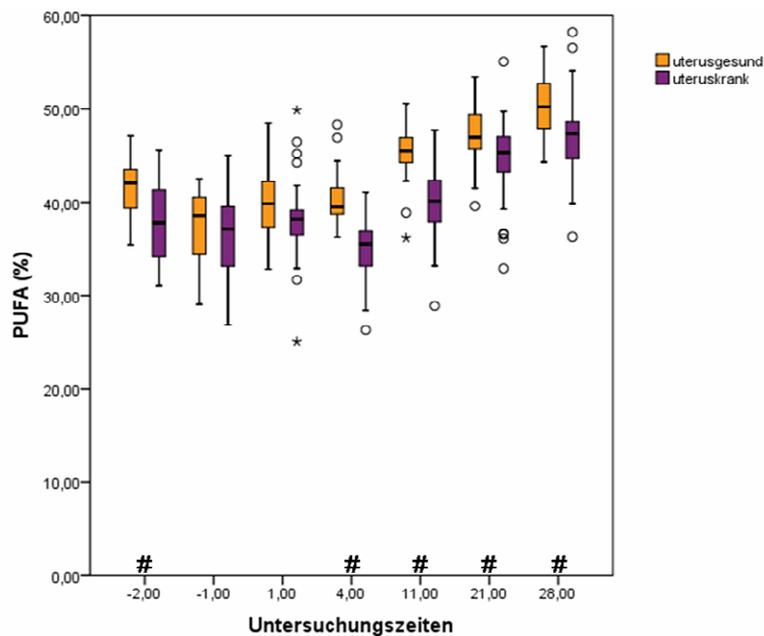


Abbildung 68: Relative Konzentration der PUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

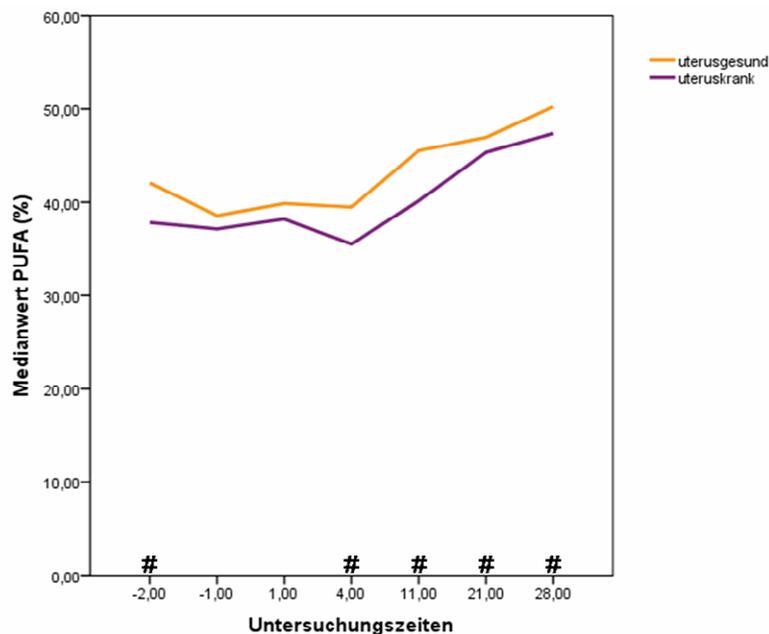


Abbildung 69: Verlauf der relativen Konzentration der PUFA im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.4 Bestimmung der Omega-Fettsäuren

4.4.1 Verlauf der Konzentrationen der Omega-3-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren

Zur Gruppe der Omega-3-Fettsäuren, die in dieser Studie betrachtet wurden, gehören die Octadecatriensäure (C18:3n3) und die Docosahexaensäure (C22:6n3).

Die Omega-3-Fettsäuren stellten bei Betrachtung der einzelnen Omega-Fettsäuren den geringsten Teil dar. Der Verlauf der Medianwerte ist für beide Tiergruppen bis zum Tag 1 p.p. geprägt von einem stetigen Abfall und einem darauf folgenden stetigen Anstieg bis zum Ende des Untersuchungszeitraums (Abbildung 71). Bis zum Erreichen der Minima einen Tag nach der Kalbung zeigten sich in beiden Tiergruppen ähnliche Medianwerte. Danach lagen die Werte der gesunden Tiere über denen der kranken (Abbildung 70). Ab dem elften Tag p.p. waren die Werte der gesunden und der kranken Tiere statistisch signifikant unterschiedlich ($P < 0,05$). Im Vergleich zu den gesunden Tieren zeigten die uteruskranken Kühe eine stärkere Streuung der Werte.

Mit Medianwerten von 2,15 bis 4,67 % lagen die Anteile der Omega-3-Fettsäuren der uteruskranken Kühe in einem ähnlichen Bereich wie die der uterusgesunden Tiere (2,36 bis 4,96 %).

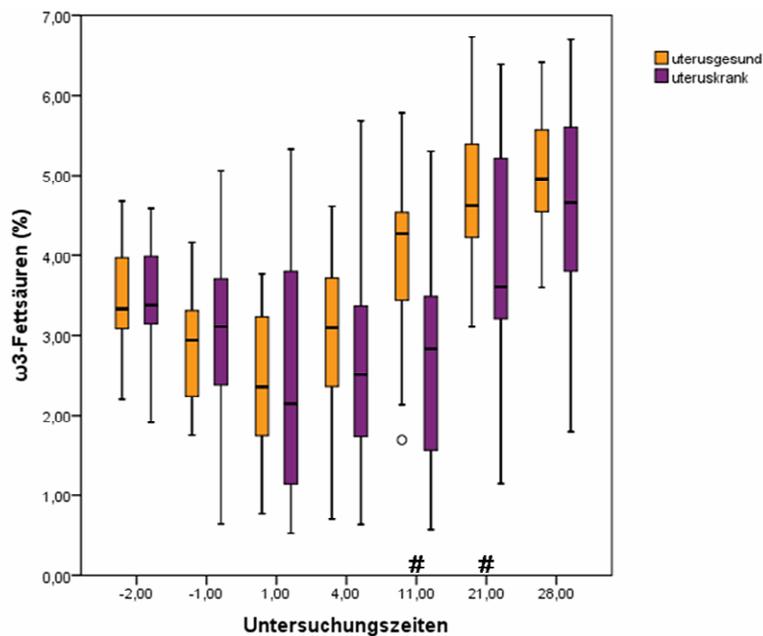


Abbildung 70: Relative Konzentration der Omega-3-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

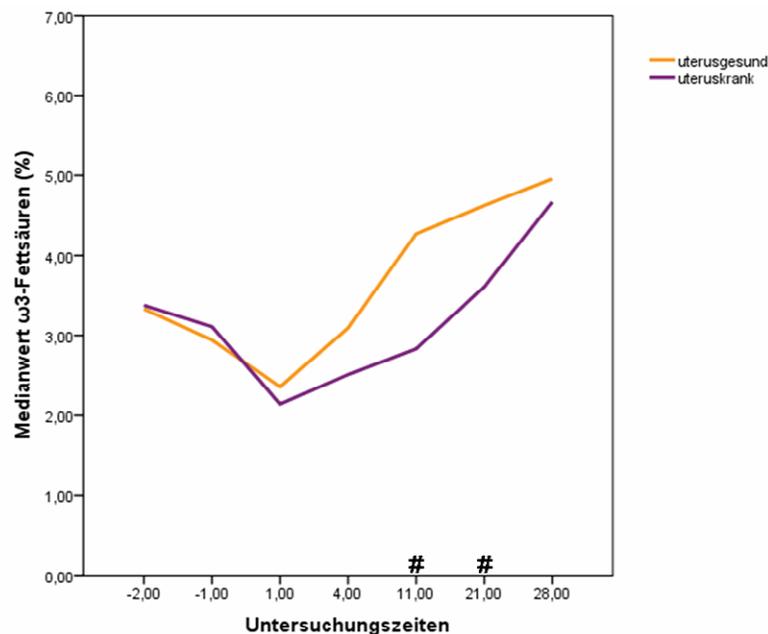


Abbildung 71: Verlauf der relativen Konzentration der Omega-3-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.4.2 Verlauf der Konzentrationen der Omega-6-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren

Von den in dieser Studie berücksichtigten Fettsäuren gehören die Octadecadiensäure (C18:2n6) und die Eicosatetraensäure (C20:4n6) zur Gruppe der Omega-6-Fettsäuren.

Der Verlauf der Omega-6-Fettsäuren relativ zur Gesamtfettsäurekonzentration verhielt sich ähnlich dem der mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Nach geringfügigen Schwankungen der Medianwerte beider Tiergruppen um die Kalbung herum, stiegen die Werte ab dem vierten Tag p.p. bis zum Ende des Untersuchungszeitraums stetig an (Abbildung 73). Über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet, waren beide Verläufe signifikant unterschiedlich ($P < 0,0001$). Außerdem lagen die Werte der uteruskranken Tiere während des gesamten Untersuchungszeitraumes unter denen der gesunden. Allerdings waren die relativen Konzentrationen nur an den Untersuchungszeiten -2, 4 und 11 signifikant unterschiedlich zwischen den Tiergruppen ($P < 0,05$) (Abbildung 72).

Die Mediane der relativen Konzentration lagen bei uteruskranken Tieren zwischen 34,43 und 44,72 % und bei uterusgesunden Tieren zwischen 37,45 und 46,84 %.

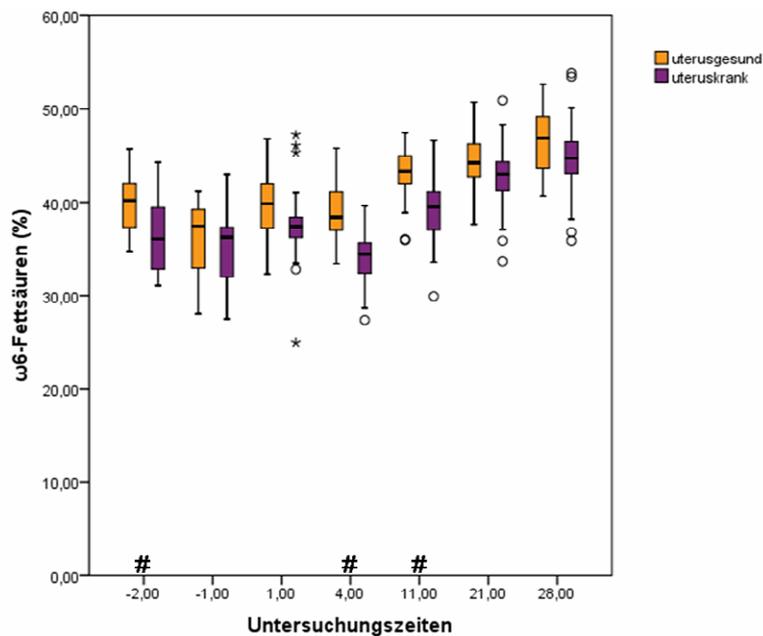


Abbildung 72: Relative Konzentration der Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

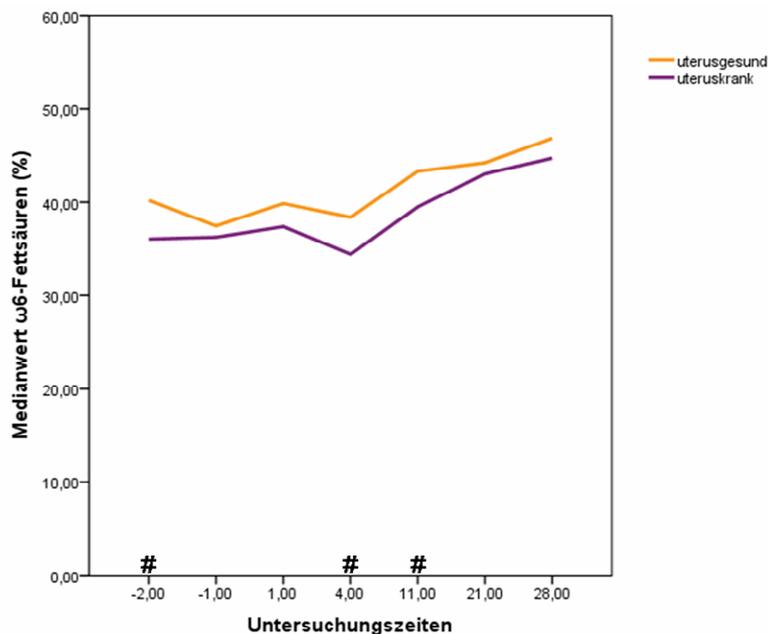


Abbildung 73: Verlauf der relativen Konzentration der Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.4.3 Verlauf der Konzentrationen der Omega-9-Fettsäuren relativ zu den Gesamtfettsäuren

In dieser Arbeit wurde aus der Gruppe der Omega-9-Fettsäuren nur die Octadecaensäure (C18:1n9) betrachtet. Die Verlaufsbeschreibung dieser Fettsäure ist dem Unterkapitel 4.2.5 zu entnehmen.

Die Verläufe der Medianwerte über den Gesamtzeitraum unterschieden sich zwischen beiden Tiergruppen signifikant ($P < 0,0001$) (Abbildung 75). Zu allen Untersuchungszeiten zeigten die erkrankten Kühe im Vergleich zu den gesunden Tieren höhere Mediane der Anteile der Omega-9-Fettsäuren ($P < 0,05$) (Abbildung 74).

Während bei den erkrankten Kühen der Bereich der relativen Konzentration der Omega-9-Fettsäuren zwischen 17,19 und 22,96 % lag, bewegten sich die Anteile bei den gesunden Kühen zwischen 15,37 und 19,65 %.

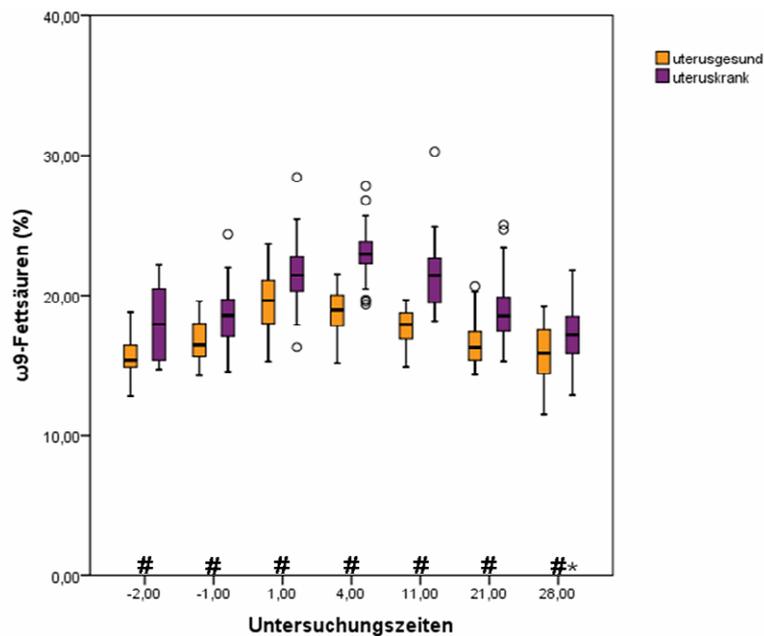


Abbildung 74: Relative Konzentration der Omega-9-Fettsäure im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

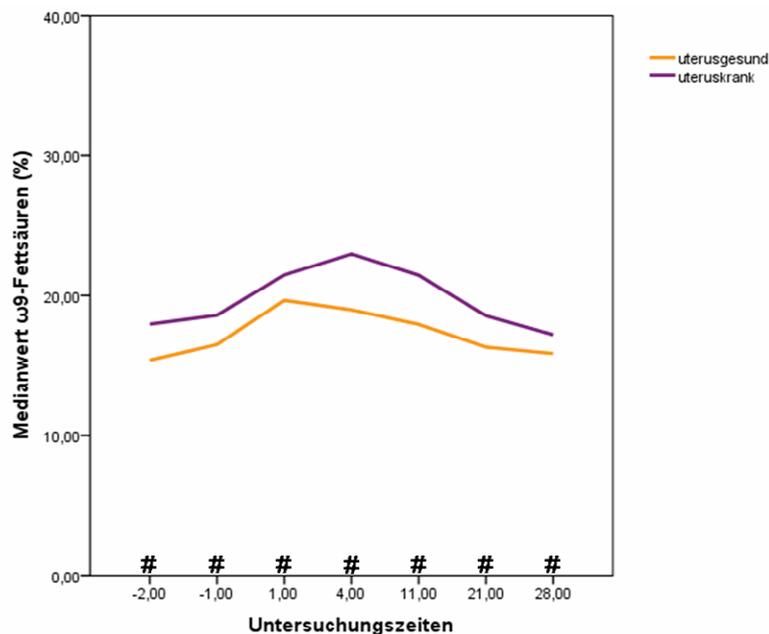


Abbildung 75: Verlauf der relativen Konzentration der Omega-9-Fettsäure im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.4.4 Verhältnis der Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren

Das Verhältnis der Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren stieg in Relation zur Gesamtfettsäurekonzentration in beiden Tiergruppen seit Beginn der Untersuchung stetig an. Bei uterusgesunden Tieren trat der maximale Medianwert am Tag 1 p.p. auf. Anschließend fielen die Werte stetig ab. Die Steigung der Medianwerte der uteruskranken Tiere verlief ein wenig flacher, so dass der maximale Wert am vierten Tag p.p. vorlag. Danach fielen auch die Medianwerte dieser Tiere stetig ab. Bis zum vierten Tag p.p. lagen die Medianwerte der uterusgesunden Tiere über denen der uteruskranken, danach lagen die Medianwerte der kranken Tiere über denen der gesunden (Abbildung 77). Lediglich am elften Tag p.p. zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Werten der beiden Tiergruppen ($P < 0,01$) (Abbildung 76).

Bei uteruskranken Tieren lagen die Mediane des Verhältnisses der Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren zwischen 9,86 und 14,80 %. Bei uterusgesunden Kühen lagen die Mediane zwischen 9,48 und 15,77 %.

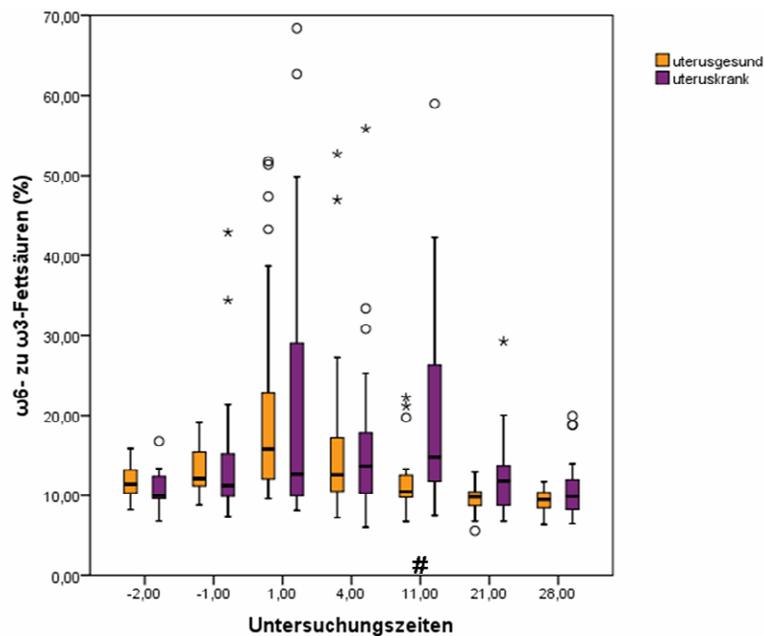


Abbildung 76: Verhältnis der Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], Median, 25-Quantil, 75-Quantil, Ausreißer [o], Extremwerte [*], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

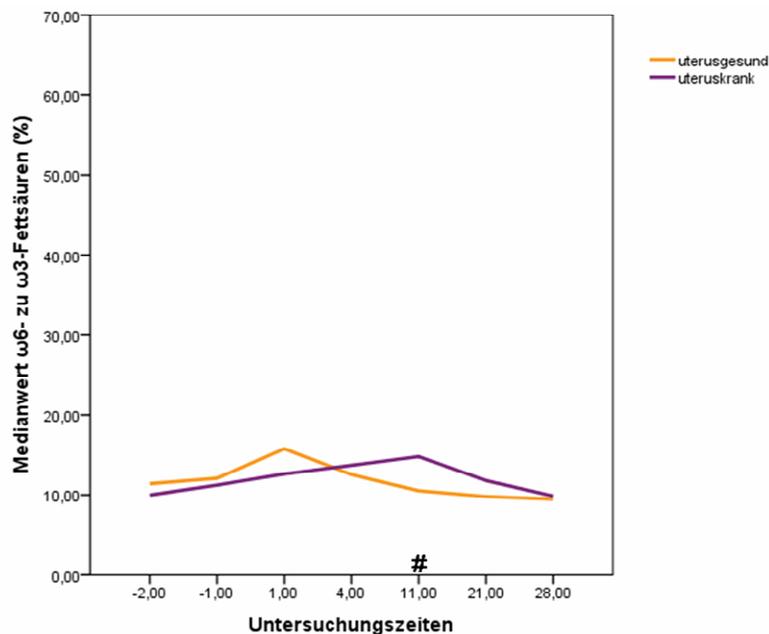


Abbildung 77: Verlauf des Verhältnisses Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren im Serum von uterusgesunden und uteruskranken Tieren zu den verschiedenen Untersuchungszeiten (-2 [17.-11. Tag a.p.], -1 [10.-4. Tag a.p.], 1 [Tag 1 p.p.], 4 [Tag 4 p.p.], 11 [Tag 11 p.p.], zu den mit # gekennzeichneten Untersuchungszeiten unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen statistisch signifikant [$P < 0,05$]).

4.5 Nicht bestimmbare Parameter

Die Fettsäuren Dodecansäure (C12:0), Eicosaensäure (C20:1), Eicosadiensäure (C20:2), Eicosatriensäure (C20:3), Eicosapentaensäure (C20:5) und Docosadiensäure (C22:5) waren mit der angewendeten Methode weder qualitativ noch quantitativ reproduzierbar zu bestimmen.

4.6 Reihenfolge der Häufigkeiten der vorkommenden Fettsäuren

Am häufigsten trat bei uteruskranken Tieren wie auch bei uterusgesunden Tieren die C18:2n6 im Serum auf. Betrachtet man die weitere Reihenfolge der Häufigkeiten der restlichen Analyten, so unterschied sich diese zwischen kranken und gesunden Tieren nicht. Als nächstes folgten die Fettsäuren Octadecaensäure (C18:1n9), Hexadecaensäure (C16:0) und Octadecaensäure (C18:0). In weitaus geringeren Konzentration kamen die Fettsäuren Eicosatetraensäure (C20:4n6), Octadecatriensäure (C18:3n3), Hexadecaensäure (C16:1), Tetradecaensäure (C14:0) vor. Sehr geringe Konzentrationen wiesen die Fettsäuren Docosahexaensäure (C22:6n3), Tetracosansäure (C24:0), Docosansäure (C22:0) und Tetracosensäure (C24:1) auf. Die Eicosansäure (C20:0) wurde aufgrund dessen, dass sie nur a.p. bestimmbar war, nicht in diese Reihenfolge mit einbezogen.

Die höchste Gesamtfettsäurekonzentration im Serum uteruskranker wie auch uterusgesunder Tiere trat am 28. Tag p.p. auf.

Die höchsten Konzentrationen freier Fettsäuren im Serum traten bei uterusgesunden Kühen am Tag 1 p.p., bei uteruskranken am Tag 4 p.p. auf.

5 Diskussion

5.1 Ziel der Studie

Ziel dieser Studie war es, eine Beziehung zwischen den quantitativen und qualitativen Gehalten der Fettsäuren im Serum von Milchkühen, die im Puerperium an Entzündungen der Gebärmutter erkrankten bzw. nicht erkrankten, herzustellen. Dafür wurden die Konzentrationen einzelner Fettsäuren in Serumproben von uterusgesunden und uteruskranken Tieren an sieben verschiedenen Zeitpunkten im Zeitraum von zwei Wochen a.p. bis vier Wochen p.p. mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) bestimmt und miteinander verglichen. Zusätzlich wurden mit einem Enzymtest die Konzentrationen der freien Fettsäuren (NEFA) in diesen Serumproben gemessen und miteinander verglichen. Anhand der Messergebnisse sollte nachfolgend überprüft werden, ob Zusammenhänge zwischen den festgestellten Konzentrationen bei uteruskranken bzw. uterusgesunden Tieren, den in der Literatur beschriebenen Funktionen einzelner Fettsäuren und dem Entstehen von Gebärmutterentzündungen bestehen.

5.2 Diskussion der Methoden

Für diese Studie wurden die Verlaufsserumproben von 50 Kühen der Rasse Deutsche Holsteins eines Milchviehbetriebes verwendet. 25 Tiere zeigten ein gutes Allgemeinbefinden. Sie wiesen keine klinisch diagnostizierbaren Entzündungserscheinungen der Gebärmutter auf und wurden somit als klinisch gesund eingestuft. Die anderen 25 Tiere zeigten Symptome einer Gebärmutterentzündung und wurden somit der Gruppe der uteruskranken Tiere zugeordnet.

Die Gruppeneinteilung in uterusgesund und uteruskrank erfolgte anhand von international anerkannten Definitionen und Untersuchungskriterien für Gebärmutterentzündungen (Sheldon et al. 2006). Von den in der Literatur beschriebenen Entzündungsformen wurden die puerperale Metritis, klinische Metritis, klinische Endometritis und Pyometra bewertet, da sie unter Praxisbedingungen ohne labortechnischen Aufwand durch die untersuchende Person festgestellt werden können. Die subklinische Endometritis wurde in der vorliegenden Studie nicht betrachtet, da sie zusätzlichen Untersuchungsaufwand erforderlich macht.

Tiere, die weitere Risikofaktoren für die Entstehung von Gebärmutterentzündungen, wie Retentio secundarium oder vaginale Verletzungen, aufwiesen, wurden nicht in diese Studie aufgenommen, so dass vor allem stoffwechselbedingte Einflüsse als Risikofaktoren für das

Auftreten von Gebärmutterentzündungen zum Tragen kamen. Da alle Tiere aus dem gleichen Betrieb stammten, konnten identische Haltungs- und Fütterungsbedingungen gewährleistet werden.

Die Zeitpunkte und Frequenz der Blutprobenentnahmen wurden so gelegt, dass die Transitperiode, also drei Wochen a.p. bis drei Wochen p.p. (Grummer 1993), in der Veränderungen des Fettsäurestoffwechsels auftreten, erfasst wurde. Die qualitative wie auch quantitative Bestimmung der Fettsäuren erfolgte durch eine Probenmessung mittels GC/MS. Die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometer ist ein in der analytischen Chemie vielfach eingesetztes Diagnostikum zur Untersuchung von Metaboliten in biologischen Proben wie Blut oder Urin (Jiye et al. 2005, Kuhara 2005, Kaspar et al. 2008, Almstetter et al. 2009, Waldhier et al. 2010). Die Methode zur Bestimmung der Fettsäuremethylester (FAME) in biologischen Proben nach Lepage und Roy (1988) wurde durch Masood et al. (2005) modifiziert und vereinfacht, um die Untersuchung großer Probenmengen in klinischen Studien zu erleichtern. Viele Autoren setzten diese Methode erfolgreich zur Fettsäurebestimmung in Serumproben ein (Bousquet et al. 2008, Coste et al. 2008, DeMar et al. 2008, Patterson und Stark 2008). Die Messmethode der FAME wurde in dieser Studie validiert durch Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Kalibration und der Messung biologischer Proben sowie die Bestimmung des technischen Fehlers.

Um den Effekt der Verdünnung des Serums durch die Lösungsmittel, in denen die internen Standards 1 und 2 gelöst sind, zu umgehen, wurden beide internen Standards im ersten Arbeitsschritt der Probenvorbereitung zusammengegeben und das Lösungsmittel im Evaporator verdampft. Aus demselben Grund wurde der Lipidextrakt, der in Hexan gelöst war, ebenfalls zur Trockne eingedampft. Außerdem wurde das Lösungsvolumen nach dem Evaporieren durch Zugabe von 60 µl Hexan für jede untersuchte Probe konstant gehalten.

Um eine Oxidierung der Fettsäuren während der Probenvorbereitung zu verhindern, wurden bei Zugabe des Serums zum eingedampften internen Standard 100 µl des Antioxidans BHT hinzugefügt. Vorversuche hatten ergeben, dass die Zugabe dieser Menge an Antioxidans die Doppelbindungen der Fettsäuren vor der Oxidation durch Luftsauerstoff ausreichend schützt.

Die quantitative Bestimmung der freien Fettsäuren (NEFA) erfolgte mittels eines enzymatischen Farbtests, der als Test-Kit durch die Firma Randox angeboten wird. Das Testverfahren ist etabliert.

Die Illustrierung der Messergebnisse dieser Studie erfolgte u.a. in Form von Box-Plots. Sie gehören zu den wichtigsten Darstellungsformen in der explorativen Datenanalyse. Sie geben

einen schnellen Aufschluss darüber, in welchem Bereich die untersuchten Daten liegen und wie sich die Verteilung dieser Daten gestaltet (Elpelt und Hartung 2004, Kohn 2004, Büchter und Henn 2007). Auch die Streuung der Daten wird dargestellt.

Zur statistischen Beschreibung der Konzentrationen der Analyten wurde als Mittelwert der Median der Messwerte herangezogen. Dieser soll den für die beobachteten Tiergruppen typischen Wert repräsentieren. Dem Median wurde gegenüber dem arithmetischen Mittelwert der Vorzug gegeben, da es sich hierbei um ein robustes Lagemaß handelt. Im Gegensatz zum arithmetischen Mittelwert fallen beim Medianwert Ausreißer weniger ins Gewicht (Krämer 2001, Weiß 2005).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

Mit der in dieser Studie angewandten GC/MS-Methode wurden die Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren gemessen sowie deren Konzentration in Relation zur Gesamtfettsäuremenge gesetzt. Literaturangaben über die Fettsäuremuster in Rinderserum, die zum Vergleich mit den eigenen Werten dienen können, liegen nur in geringem Ausmaß vor. Zumeist haben Autoren nur einzelne, ihnen wichtig erscheinende, Fettsäuren oder Fettsäuregruppen bestimmt. Weiterhin wird durch Anwendung verschiedener Messmethoden und unterschiedliche Konzentrationsangaben eine vergleichende Betrachtung erschwert.

Die Messung der Fettsäurekonzentrationen in dieser Arbeit ergab, dass die Octadecadiensäure (C18:2n6) im Serum mit einer mittleren relativen Konzentration von 29,72 bis 39,60 % bei uteruskranken Tieren und mit 32,65 bis 42,92% bei uterusgesunden Tieren während des gesamten Untersuchungszeitraums die am häufigsten vorkommende Fettsäure ist. Stahl (2005) kam bei der Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung in bovinem Serum ebenfalls zu diesem Ergebnis. Mit 56,8 Gewichtsprozent überwog sie gegenüber den anderen Fettsäuren deutlich. Auch bei Untersuchungen anderer Autoren bildet die Octadecadiensäure den Hauptanteil der Fettsäuren im Blut (Evans et al. 1961, Rukkwamsuk et al. 1999a, Lacasse et al. 2002, Kay et al. 2005, Douglas et al. 2007, Scholljegerdes et al. 2007).

Verfolgt man die Häufigkeiten der Fettsäuren weiter, so traten in der vorliegenden Studie als zweithäufigste Fettsäuren die Octadecaensäure (C18:1n9), die Hexadecaensäure (C16:0) und die Octadecaensäure (C18:0) auf. Danach folgten die Octadecatriensäure (C18:3n3), die Hexadecaensäure (C16:1), die Tetradecaensäure (C14:0) und die Docosahexaensäure (C22:6n3). Die geringsten Konzentrationen wurden für die Tetracosensäure (C24:0), die Docosaensäure (C22:0) und die Tetracosensäure (C24:1) ermittelt. Diese Ergebnisse stimmen

mit den Publikationen von Evans et al. (1961), Lacasse et al. (2002), Kay et al. (2005), Douglas et al. (2007) und Scholljegerdes et al. (2007) überein.

Eine Beeinflussung der Ergebnisse des Vergleichs der Fettsäurekonzentrationen bei uterusgesunden und uteruskranken Tieren durch die Fütterung wurde durch identische Fütterungsbedingungen in beiden Tiergruppen ausgeschlossen. Andererseits ist bei der Interpretation der Versuchsergebnisse zu beachten, dass die absoluten Messwerte der Fettsäurekonzentrationen situationsspezifisch sind. Um Fettsäuren zu kategorisieren, haben sich in der Literatur zwei Systeme etabliert. Zum einen lassen sich Fettsäuren aufgrund des Vorhandenseins von Doppelbindungen in drei verschiedene Gruppen einteilen. Man unterscheidet gesättigte Fettsäuren (SFA), einfach ungesättigte (MUFA) und mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA). Eine weitere Möglichkeit Fettsäuren zu gruppieren ergibt sich durch ihre Zugehörigkeit zu den Omega-Fettsäurefamilien. Die drei wichtigsten Familien sind: Omega-3-, Omega-6- und Omega-9-Fettsäuren. Auch in dieser Arbeit wurden die einzelnen Fettsäuren den jeweiligen oben genannten Fettsäuregruppen zugeordnet und deren relativer Anteil an der Gesamtfettsäurekonzentration berechnet. Im Serum uteruskranker und uterusgesunder Tiere traten während des ganzen Untersuchungszeitraums überwiegend mehrfach ungesättigte Fettsäuren auf, der Menge nach folgten die gesättigten und schließlich die einfach ungesättigten Fettsäuren. Ward et al. (1964) kommen in ihrer Studie allerdings zu einem anderen Ergebnis. Sie stellten fest, dass im bovinen Blut v.a. gesättigte Fettsäuren vorkommen, was sie darauf zurückführen, dass die aufgenommenen ungesättigten Fettsäuren im Pansen zu gesättigten Fettsäuren biohydrogeniert und somit vermehrt im Darm resorbiert werden. Die Einordnung der einzelnen Fettsäuren in ihre jeweilige Omega-Fettsäurefamilie ergab, dass in der vorliegende Studie bei uteruskranken wie auch uterusgesunden Kühen im Serum v.a. Omega-6-Fettsäuren vorkamen, gefolgt von Omega-9- und schließlich Omega-3-Fettsäuren. Stahl (2005) kam ebenfalls zu dem Ergebnis, dass der Menge nach hauptsächlich Omega-6-Fettsäuren ($62,0 \pm 2,7$ Gewichtsprozent) im Serum vorkamen. Omega-9-Fettsäuren machten $7,5 \pm 1,1$, Omega-3-Fettsäuren $2,5 \pm 0,5$ und Omega-7-Fettsäuren $0,9 \pm 0,2$ Gewichtsprozent aus.

Durch das Einsetzen der Laktation kommt es bei Milchkühen zu einer starken Zunahme des Energiebedarfs (Drackley 2004). Da jedoch die Zunahme der Trockenmasseaufnahme wesentlich langsamer erfolgt als der Anstieg des Energiebedarfs (de Kruif et al. 2007), sind die Tiere nicht in der Lage, ihren Bedarf für Erhaltung und Leistung zu decken, und geraten somit in eine negative Energiebilanz (Bell 1995, Goff und Horst 1997, Drackley 1999, Overton 2002, Drackley 2004). Um diese zu kompensieren, werden Fettsäuren aus den Körper-

fettreserven mobilisiert (Formigoni und Trevisi 2003, Drackley 2004, Adewuyi et al. 2005), was sich in einem Anstieg der freien Fettsäuren im Blut äußert (Grummer 1993, Rukkwamsuk et al. 1999a, Vandehaar et al. 1999). Die Konzentration der freien Fettsäure ist somit ein direkter Indikator für die Stärke der negativen Energiebilanz (Leroy et al. 2005a).

Die in dieser Studie mittels Enzym-Kit bestimmten Konzentrationen freier Fettsäuren (NEFA) der Einzeltiere stimmen weitestgehend mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (Vazquez-Anon et al. 1994, Drackley 2000, Leroy et al. 2005a). Die Konzentrationen freier Fettsäuren zeigten bei uteruskranken wie uterusgesunden Tieren ein ähnliches Verlaufsmuster. Bis zum ersten Tag p.p. bei gesunden Kühen bzw. bis zum vierten Tag p.p. bei erkrankten Tieren nahmen die Konzentrationen deutlich zu. Dies deckt sich mit den Aussagen in der Literatur, wonach sich generell zum Zeitpunkt der Kalbung ein Anstieg der freien Fettsäuren im Blut zeigt (Vazquez-Anon et al. 1994, Rukkwamsuk et al. 1999a). Auch über den gesamten Untersuchungszeitraum gesunde gebliebene Tiere leiden temporär unter einer Energiemangelsituation (Grummer 1995). Nach dem vierten Tag p.p. zeigten in dieser Studie die Tiere beider Versuchsgruppen einen Konzentrationsabfall, der bis zum Ende des Untersuchungszeitraums anhielt. Diese Form des Verlaufs deckt sich mit den bei anderen Autoren festgestellten Verlaufsmustern (Vazquez-Anon et al. 1994, Drackley 2000, Leroy et al. 2005a).

Während sich die Konzentrationsverläufe bei beiden Tiergruppen der Form nach ähneln, sind die Konzentrationswerte deutlich unterschiedlich. Während des gesamten Untersuchungszeitraums lagen die Medianwerte der erkrankten Tiere über denen der uterusgesunden Tiere und bis zur dritten Woche p.p. (Untersuchungszeitpunkt 21) war dieser Unterschied statistisch signifikant ($P < 0,01$). Zusätzlich fällt in dieser Studie auf, dass es sich bei allen Tieren, die sieben Tage nach der Kalbung noch Konzentrationen von mehr als 700 $\mu\text{mol/l}$ aufwiesen, immer um Kühe handelte, die im Verlauf des Untersuchungszeitraums eine Gebärmutterentzündung entwickelten. Nach Drackley (2000) zeigen solche Tiere somit eine schwere Ausprägungsform der negativen Energiebilanz. Dies deckt sich mit den Aussagen von Kaneene et al. (1997), die bei erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren im Blut von Rindern eine Zunahme des Risikos für Metritis feststellen konnten. Auch die Arbeiten von Dyk (1995) und Melendez et al. (2009) bestätigen einen Zusammenhang zwischen erhöhten Konzentrationen freier Fettsäuren und dem vermehrten Auftreten postpartaler Störungen.

Zudem wurden in dieser Studie die Konzentrationen einzelner Fettsäuren im Blut bestimmt. Dies geschah aufgrund der Bestätigung des Zusammenhangs zwischen dem Auftreten von erhöhten Konzentrationen der freien Fettsäuren und der peripartalen Immunsuppression

(Block et al. 2001, Lacetera et al. 2005, LeBlanc 2005, Scalia et al. 2006, Melendez et al. 2009) und der in der Literatur vielfach diskutierten negativen Auswirkungen von freien Fettsäuren (Bell 1995, Eerdenburg und Adewuyi 2005, Scalia et al. 2006). Die gemessenen Konzentrationen beinhalteten sowohl die freien wie auch die gebundenen Anteile der einzelnen Fettsäuren. Alle in dieser Studie bestimmten Fettsäuren zeigten bei uteruskranken wie auch bei uterusgesunden Tieren über den gesamten Untersuchungszeitraum deutliche Konzentrationsveränderungen. Vergleicht man den Verlauf der Gesamtfettsäurekonzentration beider Tiergruppen mit dem jeweils zugehörigen Verlauf der Konzentrationen der freien Fettsäuren, so ist auffällig, dass diese sich stark unterschieden. Während bei den uterusgesunden Tieren einen Tag nach der Kalbung die höchsten Medianwerte der Konzentrationen der freien Fettsäuren auftraten, wies an diesem Tag die Gesamtfettsäurekonzentration die niedrigsten Werte während des gesamten Untersuchungszeitraums auf. Die bei uteruskranken Tieren signifikant niedrigeren Gesamtfettsäurekonzentrationen ($P < 0,05$) zum Ende des Untersuchungszeitraumes bei gleichzeitig, im Vergleich zu uterusgesunden Kühen, höheren Konzentrationen freier Fettsäuren zeigen, dass zwar die Lipolyse dieser Tiere verstärkt abläuft, dennoch aber nicht genug Energie für die eigentliche Nutzung durch das Tier zur Verfügung steht. Die Ursache hierfür liegt in der bei Wiederkäuern eingeschränkten Fähigkeit, das für den Lipidtransport wichtige Very Low Density Lipoprotein (VLDL) zu synthetisieren (Goff und Horst 1997, Lewis 2003). Der so begrenzte Transport von Fettsäuren aus der Leber führt somit trotz verstärkter Lipolyse zu einem Mangel an verfügbarer Energie in der Peripherie.

Ein weiteres Ziel dieser Studie war die Beantwortung der Frage, ob sich die Konzentrationen einzelner Fettsäuren zwischen uterusgesunden und uteruskranken Kühen unterscheiden. Die meisten statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen traten postpartal auf ($P < 0,05$). Aber auch antepartal konnten statistisch signifikante Unterschiede für einzelne Fettsäuren festgestellt werden ($P < 0,05$).

Beurteilung der Ergebnisse einzelner Fettsäuren hinsichtlich des Zusammenhangs mit dem Reproduktionssystem

Dass es durch puerperale Gebärmutterentzündungen bei Milchkühen zu einer massiven Senkung der Reproduktionsleistung kommt, ist in der Literatur mehrfach belegt worden (LeBlanc et al. 2002b, Formigoni und Trevisi 2003, Földi et al. 2006, Sheldon et al. 2006, Bell und Roberts 2007, Chapwanya 2008, Sheldon et al. 2008, Gautam et al. 2010). Gebärmutterentzündungen gelten als eine der Hauptursache für Sub- und Infertilität (Lewis 1997, LeBlanc et al. 2002b, Formigoni und Trevisi 2003, Sheldon und Dobson 2004, Földi et al.

2006, Chapwanya 2008, de Kruif und Leroy 2008, Sheldon et al. 2008). Auch Euler (2009) konnte in ihrer Studie nachweisen, dass uterusranke Tiere im Vergleich zu gesunden Tieren deutlich längere Rastzeiten (uterusgesund: 64 Tage, uteruskrank: 85 Tage) und Gützeiten (uterusgesund: 86 Tage, uteruskrank: 126 Tage) aufweisen. Einige Autoren diskutierten Zusammenhänge zwischen beeinträchtigttem Fettstoffwechsel um die Kalbung herum und der Abnahme der Fertilität. Sie zeigten, dass der Ausprägungsgrad der negativen Energiebilanz-Einfluss auf die Reproduktionsleistung nimmt (Spicer et al. 1990, Beam und Butler 1997, Opsomer et al. 2000, Jorritsma et al. 2004). Im Folgenden werden Erklärungsansätze für Zusammenhänge zwischen Fettsäurestoffwechsel und beeinträchtigter Reproduktionsleistung gegeben.

Die Konzentrationen von Hexadecansäure (C16:0) und Octadecaensäure (C18:1n9) waren in der vorliegenden Studie bei den uterusranke Tiere höher als bei den gesunden Tieren. Negative Auswirkungen hoher Konzentrationen von Hexadecansäure und Octadecaensäure auf verschiedene Zellarten des Reproduktionstraktes sind in der Literatur mehrfach durch In-vitro-Versuche nachgewiesen worden. Es wurden erhöhte Apoptoseraten (Mu et al. 2001, Leroy et al. 2005a), verminderte Zelllebensfähigkeit (Mu et al. 2001), schlechtere Fertilisationsraten und Reifungsprozesse der Eizellen (Leroy et al. 2005a) sowie verminderte Zellteilungsraten (Leroy et al. 2005a, Vanholder et al. 2005) beobachtet. Besonders die Granulosazellen, die wichtige Funktionen während des Zyklus einnehmen, u.a. durch die Produktion der Östrogenvorläufer und die Beteiligung an der Bildung des C.I., scheinen empfindlich für hohe Konzentrationen dieser Fettsäuren zu sein (Mu et al. 2001, Vanholder et al. 2005). Die im Mittel höheren Konzentrationen der Hexadecansäure sowie der Octadecaensäure bei uterusranke Kühen, die ungefähr bis zum elften Tag p.p. andauern, könnten durch ihre nachgewiesene negative Wirkung auf Zellen des Reproduktionstraktes dazu beitragen, dass bei uterusranke Tieren die Rückbildung der Gebärmutter und die Wiederaufnahme des Zyklus nach der Kalbung gestört ist. In diesem Zeitraum bereitet der Organismus das Wiedereinsetzen des normalen Zyklus nach einer Kalbung vor, so dass es 17 bis 21 Tage p.p. zur ersten Ovulation kommen kann (Bondurant 1999). Dementsprechend lässt sich vermuten, dass die erhöhten Konzentrationen der Hexadecansäure und Octadecaensäure bei uterusranke Tieren wesentlich dazu beitragen, dass an Gebärmutterentzündung erkrankte Kühe nachfolgend durch ovarielle Dysfunktion schlechtere Reproduktionsleistungen zeigen. Diese hemmende Wirkung wird auch für die Octadecansäure (C18:0) beschrieben. In der vorliegenden Studie hingegen zeigt diese Fettsäuren zwar am vierten Tag p.p. höhere Medianwerte bei uterusranke Tieren, jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant und nach dem elften Tag p.p. zeigten sich sogar bei den gesunden Tieren höhere

Medianwerte ($P < 0,05$). Dieser auffällige Abfall der Konzentration der Octadecansäure in beiden Tiergruppen könnte gemäß Rukkamsuk et al. (2000) dadurch bedingt sein, dass diese Fettsäure bei Einsetzen der Laktation vermehrt zur Milchfettsynthese herangezogen wird. Doch nicht die Octadecansäure sondern die Octadecaensäure ist eine der häufigsten Fettsäuren in Kuhmilch (Petit 2002, Stahl 2005). Allerdings wird die Octadecansäure durch das Enzym Desaturase zur Octadecaensäure umgewandelt (Abayasekara und Wathes 1999). Dadurch könnte sich eine vermehrte Nutzung dieser Fettsäure zum Zeitpunkt des Einsetzens der Laktation erklären.

In dieser Studie wurden die Konzentrationen der zu den Omega-3-Fettsäuren gehörenden Octadecatriensäure (C18:3n3) und Docosahexaensäure (C22:6n3) gemessen. Sowohl uterusranke wie auch uterusgesunde Kühe zeigten postpartal einen Anstieg der Octadecatriensäure, der bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes andauerte. Allerdings begann dieser Anstieg bei den uterusgesunden Tieren früher und fiel auch deutlich stärker aus ($P < 0,05$). Antepartal lagen die Medianwerte der Konzentration der Docosahexaensäure bei uterusranen Tieren signifikant höher als bei uterusgesunden Tieren ($P < 0,05$). Zwischen dem vierten und elften Tag p.p. stieg die Konzentration bei gesunden Tieren an, während sie bei erkrankten Kühen bis zum elften Tag p.p. weiter abfiel. Dadurch lagen, trotz Anstieg der Konzentration bei uterusranen Kühen, ab diesem Zeitpunkt die Medianwerte uterusgesunder Tiere höher. In der Literatur wird beschrieben, dass hohe Konzentrationen an Omega-3-Fettsäuren in der Lage sind, die Prostaglandinsynthese zu hemmen (Mattos et al. 2000, Mattos et al. 2003, Vanholder et al. 2005, Caldari-Torres et al. 2006). Da die Serie-2 Prostaglandine essentiell für den Ablauf des Zyklus sind (Jones et al. 2008), wirkt sich ein Mangel an diesen Hormonen unvorteilhaft auf das Wiedereinsetzen des ersten Zyklus post partum aus. Des Weiteren spielen Omega-3-Fettsäuren eine wichtige Rolle bei der Erhaltung von Trächtigkeiten (Bilby et al. 2006a). Trächtigkeitsverluste sind vielfach auf die Unfähigkeit zur Aufrechterhaltung des C.I. zurückzuführen. Die der Regression des C.I. entgegenwirkenden Substanzen Prostaglandin E_3 (PGE_3) (Abayasekara und Wathes 1999) und Interferon τ (Thatcher et al. 2001) werden positiv durch Omega-3-Fettsäuren beeinflusst (Abayasekara und Wathes 1999, Bilby et al. 2006b). Aufgrund der Bedeutung beider Omega-3-Fettsäuren als Prostaglandinvorläufer würde man bei uterusranen Tieren für die Octadecatriensäure sowie für die Docosahexaensäure postpartal höhere Konzentrationen im Blut vermuten, die anschließend einen Mangel an funktionell wichtigem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) verursachen und somit einen ersten physiologisch ablaufenden Zyklus nach einer Kalbung negativ beeinflussen. Jedoch zeigten in der vorliegenden Studie beide Fettsäuren bei uterusgesunden Kühen p.p. höhere Konzentrationen, wodurch es bei diesen Tieren zu einer vermehrten

Produktion von PGE_3 kommen könnte. Erhöhte Konzentrationen dieses luteotroph wirksamen Prostaglandins wirken somit bei uterusgesunden Tieren Embryonalverlusten entgegen. Zusätzlich ist denkbar, dass es durch die höheren Konzentrationen an Omega-3-Fettsäuren bei uterusgesunden Tieren zu einem verbesserten Embryonalwachstum und damit zu einer erhöhten Produktion von Interferon τ während der frühen Gravidität kommt. Das Fehlen luteotroph wirksamer Substanzen bei uteruskranken Tieren könnte somit dafür verantwortlich sein, dass uteruskranke Kühe nicht in der Lage sind, eine Gravidität in der frühen Phase der Trächtigkeit aufrechtzuerhalten (Ambrose und Kastelic 2003). Deshalb könnten die postpartal geringeren Konzentrationen an Octadecatriensäure und Docosaheptaensäure bei uteruskranken Tieren das Risiko für das Auftreten von Frühaborten erhöhen und dadurch zu Sub- und Infertilität dieser Tiere beitragen.

In der vorliegenden Studie wurden zwei verschiedene Omega-6-Fettsäuren, die Octadecadiensäure (C18:2n6) und die Eicosatetraensäure (C20:4n6), bestimmt. Die Octadecadiensäure zeigte in beiden Tiergruppen nach der Kalbung einen Anstieg der Konzentrationen, der auch zum Zeitpunkt des Wiedereinsetzens des ersten postpartalen Zyklus noch weiter zunahm. Während bis zum Tag 4 p.p. bei uteruskranken Tieren im Vergleich zu gesunden Tieren geringgradig höhere Medianwerte auftraten, zeigten sich nach dem vierten Tag p.p. bei den uterusgesunden Tieren signifikant höhere Konzentrationen ($P < 0,05$). Bei uteruskranken Kühen zeigten sich bis zum vierten Tag p.p. höhere Medianwerte der Konzentration der Eicosatetraensäure. Danach wiesen jedoch gesunde Tiere bis zum Ende des Untersuchungszeitraums höhere Medianwerte auf. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen traten allerdings nur am 21. und 28. Tag p.p. auf ($P < 0,05$). Während allerdings bei uteruskranken Tieren die mittlere Konzentration dieser Fettsäure ab dem 21. Tag p.p. konstant blieb, war bei uterusgesunden Kühen eine weitere Zunahme zu verzeichnen. Durch ihre Funktion als Vorläufer der Serie-2 Prostaglandine (Petit 2002, Arab 2003, Moussavi et al. 2007, Staples et al. 2008) übernehmen beide Omega-6-Fettsäuren eine wichtige Rolle im Reproduktionsprozess. Der postpartale Anstieg der Konzentrationen beider Fettsäuren im Blut bei uterusgesunden Tieren könnte eine vermehrte Synthese von Serie-2 Prostaglandinen bewirken, welche essentiell für das Wiedereinsetzen des Zyklus sind (Jones et al. 2008). Bei uteruskranken Tieren hingegen wäre die Prostaglandinsynthese durch den Mangel an Omega-6-Fettsäuren verringert, wodurch die ovariellen Funktionskreise gestört werden und eine Zyklusaufnahme nach einer Kalbung negativ beeinflusst wird. Hierin könnte eine Begründung für die bei an Gebärmutterentzündung erkrankten Tieren später auftretende Sub- und Infertilität liegen.

Für die restlichen Fettsäuren, die in dieser Arbeit gemessen wurden, werden in der Literatur keine individuellen Wirkungsweisen auf das Reproduktionssystem beschrieben. Während bei der Tetradecansäure (C14:0) bis auf den vierten Tag p.p. stets höhere Medianwerte bei gesunden Tieren auftraten, zeigte sich bei den Fettsäuren Hexadecaensäure (C16:1), Docosansäure (C22:0), Tetracosansäure (C24:0) und Tetracosensäure (C24:1) ein anderes Verhalten. Die Verläufe dieser vier Fettsäuren wiesen ein ähnliches Verlaufsbild auf. Seit Versuchsbeginn lagen die Medianwerte der Konzentrationen der uteruskranken Tiere über denen der uterusgesunden. Zwischen dem vierten und elften Tag p.p. änderte sich dieser Zustand, außer bei der Tetracosensäure, und die Medianwerte der gesunden Tiere stiegen über die Werte der erkrankten Kühe. Es wäre interessant zu klären, ob sich die in dieser Studie festgestellten höheren Konzentrationen an Tetradecansäure bei den uterusgesunden Tieren positiv auf die Reproduktionsleistung und somit die Fertilität auswirken. Fernerhin stellt sich die Frage, ob die in dieser Studie bis zum vierten bzw. elften Tag p.p. auftretenden höheren mittleren Konzentrationen der Fettsäuren Hexadecaensäure, Docosansäure, Tetracosansäure und Tetracosensäure bei uterusgesunden Kühen positive Effekte auf die Reproduktionsorgane ausüben.

Zum Ende des Untersuchungszeitraums fällt auf, dass es bei allen Fettsäuren zu einem Anstieg der Konzentration kommt. Diese Zunahme ist immer, mit Ausnahme der Tetracosensäure, bei uterusgesunden Tieren stärker ausgeprägt. Auf der einen Seite wurde in der Literatur vielfach gezeigt, dass hohe Fettsäurekonzentrationen negative Auswirkungen auf Reproduktionsorgane zeigen, auf der anderen Seite werden Fettsäuren für die Bildung von Cholesterol, dem Substrat der Steroidgenese, benötigt. Zu niedrige Konzentrationen an Fettsäuren könnten also dazu führen, dass die Synthese von Cholesterol und damit von Steroidhormonen bei kranken Tieren im Vergleich zu gesunden vermindert ist. Sheldon et al. (2002) fanden heraus, dass Tiere, die an Endometritis litten, weniger Östradiol sezernierten. Dies führte dazu, dass die dominanten Follikel dieser Tiere im Vergleich zu gesunden Tieren ein verringertes Wachstum zeigten. Östradiol beeinflusst zum einen die Proliferation der Granulosazellen und dadurch das Wachstum des Follikels (Abayasekara und Wathes 1999), zum anderen fördert es die Ovulation (Formigoni und Trevisi 2003). Robinson et al. (2002) konnten in einem Fütterungsversuch zeigen, dass eine verstärkte Fütterung mit Octadecatriensäure (C18:3n3) die Östradiolsekretion fördert. In der vorliegenden Studie konnten ab dem elften Tag p.p. signifikant höhere Medianwerte für die Konzentration der Octadecatriensäure festgestellt werden. Folglich könnte in dem Unterschied zwischen hohen Fettsäurekonzentrationen bei gesunden Tieren und niedrigeren Werten bei den erkrankten Tieren eine der Ursachen für eine schlechtere Fertilität bei uteruskranken Tieren liegen.

In der vorliegenden Studie zeigte sich in beiden Versuchsgruppen eine starke Erhöhung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren, wobei in beiden Gruppen die höchsten Medianwerte bei 17:1 bis 18:1 lagen. Für Rinder liegen in der Literatur keine Referenzwerte für dieses Verhältnis vor. Für die menschliche Ernährung wird ein Verhältnis von 5:1 empfohlen (Singh et al. 1996, DGE 2000). In einem Fütterungsversuch konnte bei Kühen nachgewiesen werden, dass die Erhöhung des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren eine verringerte Reproduktionsfunktion bewirkt (Mattos et al. 2000). Und auch Thatcher et al. (2004) sind der Meinung, dass eine Veränderung des Verhältnisses spezifische Reproduktionsprozesse beeinflusst. Zurückzuführen ist dies auf die Konkurrenz dieser beiden Fettsäurefamilien um dasselbe Enzymsystem (Mattos et al. 2000, Arab 2003). Erhöht sich der Anteil an verfügbaren Omega-6-Fettsäuren, werden vermehrt Prostaglandine der Serie-2 synthetisiert. Sind im Organismus vermehrt Omega-3-Fettsäuren vorhanden, hemmt dies die Produktion von $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Danet-Desnoyers et al. 1995, Mattos et al. 2000). In der vorliegenden Studie fällt auf, dass im Verlauf des Verhältnisses von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren die Phase der Erhöhung dieses Verhältnisses bei uterusgesunden Tieren deutlich kürzer andauert. Bei uteruskranken Tieren hingegen traten die maximalen Medianwerte erst am elften Tag p.p. auf, einem Zeitpunkt, an dem die Werte der gesunden Tiere deutlich niedriger lagen ($P < 0,01$). Zum Ende des Untersuchungszeitraums zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede und es wurden in beiden Gruppen ähnlich hohe Werte erreicht. In Zukunft gilt es zu klären, ob ein erhöhtes Verhältnis von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren negative Auswirkungen auf das Reproduktionssystem hat.

Beurteilung der Ergebnisse einzelner Fettsäuren hinsichtlich des Zusammenhangs mit dem Immunsystem

Da sich die Phase der negativen Energiebilanz und die dadurch bedingten erhöhten Konzentrationen an freien Fettsäuren im Blut mit dem Zeitraum der peripartalen Immunsuppression decken, gehen einige Autoren davon aus, dass diese Störung des Energiehaushaltes in Zusammenhang mit der Hemmung der Immunfunktion steht (Wentink et al. 1997, Rukkwamsuk et al. 1998, Lacetera et al. 2004, Hammon et al. 2006). Melendez et al. (2009) stellten die These auf, dass erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren ursächlich für die peripartale Immunsuppression sind und somit einen Prädispositionsfaktor für peripartale Erkrankungen darstellen. In der Literatur konnte vielfach gezeigt werden, dass sich erhöhte Fettsäurekonzentrationen negativ auf die Funktionen des Immunsystems auswirken (Stulnig et al. 2000, Harbige 2003, Lacetera et al. 2004, Zerbe et al. 2005, Földi et al. 2006, Hammon et al. 2006, Scalia et al. 2006).

Zu den Untersuchungszeiten -1 und 1, also um die Kalbung herum, lagen die Konzentrationen der Hexadecansäure (C16:0) bei den uterusgesunden Kühen signifikant höher als bei den erkrankten Tieren ($P < 0,05$). Über die Funktion der Hexadecansäure für das Immunsystem ist wenig bekannt. Lediglich Kew et al. (2003a) und Inoguchi et al. (2000) stellten einen Zusammenhang zwischen einer verminderten Funktion des Immunsystems und einer hohen Konzentration an Hexadecansäure her. Während Kew et al. (2003a) die Ursache hierfür in einer veränderten Zellmembranzusammensetzung oder einer herabgesenkten Phagozytoseaktivität sehen, vermuten Inoguchi et al. (2000), dass eine verstärkte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies, die Zellschäden hervorruft, ursächlich hierfür ist. Die im Vergleich höheren Medianwerte uteruskranker Tiere bis zum Tag 4 p.p. könnten durch eine immun-suppressive Wirkung zur Entstehung von Gebärmutterentzündungen beitragen. Um die Kalbung herum könnte somit eine durch die Hexadecansäure verursachte Minderung der Phagozytose das Risiko für die Entstehung von Gebärmutterentzündungen erhöhen. Einige Autoren bestätigen eine verminderte Phagozytoseaktivität bei Kühen, die an Gebärmutterentzündung erkrankten (Cai et al. 1994, Lewis 1997, Hammon et al. 2006). Da aber Phagozyten die Initialabwehr gegenüber einer Keimbesiedelung im Uterus bilden, ist ihre uneingeschränkte Funktion von besonderer Wichtigkeit zur Abwehr bakterieller Infektionen (Lewis 1997, Dhaliwal et al. 2001, Sheldon und Dobson 2004, Földi et al. 2006, Hammon et al. 2006, Sheldon et al. 2009).

In der vorliegenden Studie sind besonders die kontinuierlich höheren Medianwerte der Konzentration der Octadecaensäure (C18:1n9) bei uteruskranken Tieren im Vergleich zu den gesunden Tieren bis zum vierten Tag p.p. auffällig ($P < 0,05$). Nach dem elften Tag p.p. hingegen lagen die Werte bei uteruskranken Kühen unter denen der uterusgesunden. Wirkungen der Octadecaensäure auf das Immunsystem werden in der Literatur nur vereinzelt beschrieben. In einer Studie von Inoguchi et al. (2000) bewirkten erhöhte Konzentrationen an Octadecaensäure, genau wie Hexadecansäure, in der Zellkultur eine verstärkte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies. Bei de Pablo et al. (1998) verursachten sie außerdem eine Hemmung der Lymphozytenproliferation. Die Autoren führen diese Umstände darauf zurück, dass es aufgrund der veränderten Zusammensetzung der Phospholipide der Zellmembranen zu einer Veränderung der Fluidität kommen kann. In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass später uterusranke Tiere gerade zum Zeitpunkt der Infektion, der sich mit dem Zeitraum der Kalbung deckt (Mateus et al. 2002b, Whiteford und Sheldon 2005), im Vergleich zu Tieren, die gesund bleiben, erhöhte Konzentrationen an Octadecaensäure aufweisen. Die hohen Konzentrationen dieser Fettsäure könnten sich ebenso wie bei der Hexadecansäure

negativ auf die Funktion von Lymphozyten auswirken, wodurch die Abwehr dieser Tiere deutlich beeinträchtigt wäre.

In dieser Studie wurden die Konzentrationen der zu den Omega-6-Fettsäuren gehörenden Octadecadiensäure (C18:2n6) und Eicosatetraensäure (C20:4n6) gemessen. Die Octadecadiensäure zeigte bei uterusgesunden wie uteruskranken Tieren antepartal einen ähnlichen Verlauf der Konzentrationen und es traten keine signifikanten Unterschiede auf. Postpartal stiegen die Medianwerte der Konzentrationen in beiden Tiergruppen stetig an, wobei diese Werte ab dem elften Tag p.p. bei gesunden Kühen signifikant höher ausfielen ($P < 0,01$). Für die Eicosatetraensäure zeigten sich bis zum vierten Tag p.p. bei kranken Kühen im Vergleich zu den gesunden höhere Medianwerte. Ab dem elften Tag p.p. hingegen traten bei den gesunden Kühen höhere Konzentrationen auf. Allerdings konnten während des gesamten Untersuchungszeitraums nur am 21. und 28. Tag p.p. signifikante Unterschiede zwischen den Konzentrationen der Eicosatetraensäure beider Tiergruppen festgestellt werden ($P < 0,05$). In der Literatur werden hohen Konzentrationen an Omega-6-Fettsäuren zumeist immunsuppressive Wirkung zugeschrieben (Calder 1998, Harbige 2003, Staples et al. 2008). Niedrige Dosen hingegen sollen die Funktion des Immunsystems verbessern (Calder 1998). Die Ursache hierfür scheint in der veränderten Membranzusammensetzung der Immunzellen und der damit verbundenen veränderten Fluidität und Genexpression dieser Zellen zu liegen (de Pablo und Alvarez de Cienfuegos 2000, Staples et al. 2008). Die Konzentration der Octadecadiensäure könnte als Vorläufer der Eicosatetraensäure auch Auswirkungen auf die Synthese von Serie-2 Prostaglandinen haben. Prostaglandine dieser Serie, insbesondere $\text{PGF}_{2\alpha}$, wirken proinflammatorisch (Hoedemaker et al. 1992, Lewis 2003, Sheldon et al. 2009). Dies äußert sich beispielsweise in einer Stimulation der Zytokinproduktion (Hoedemaker et al. 1992, Lewis 2003). Allerdings gibt es hierzu in der Literatur widersprüchlichen Aussagen. Einige Autoren kommen zu dem Schluss, dass hohe Konzentrationen an Octadecadiensäure die Synthese der Eicosatetraensäure sogar hemmen (Graham et al. 1994, Thatcher et al. 1994, Cheng et al. 2001), womit es nicht zu einer verstärkten Synthese von Serie-2 Prostaglandinen kommen würde. Ob die höheren Konzentrationen der Eicosatetraensäure, die zum Infektionszeitpunkt bei später uteruskranken Tieren auftraten, eine Immunsuppression bewirken können, ist fraglich, denn zu diesem Zeitpunkt konnten keine signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen festgestellt werden. Dennoch sind laut Harbige (2003) die C20:4n6 sowie ihre Metaboliten in der Lage die Funktion von Lymphozyten zu hemmen. Zudem könnte aus dieser Fettsäure vermehrt $\text{PGF}_{2\alpha}$ synthetisiert werden, dessen proinflammatorische Wirkung die Entstehung von uterinen Entzündungen begünstigt. Einige Autoren konnten bei nachfolgend an Endometritis erkrankten Kühen im Blut erhöhte

Konzentrationen des $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Metaboliten feststellen (Del Vecchio et al. 1994, Mateus et al. 2003). Die in der vorliegenden Studie bei uteruskranken Tieren festgestellten höheren Konzentrationen der Eicosatetraensäure bis zum vierten Tag p.p. könnten folglich das Risiko für die Entstehung einer Gebärmutterentzündung erhöhen. Die postpartal höheren Medianwerte der Eicosatetraensäure bei gesunden Tieren verursachen demnach ebenfalls höhere $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentrationen. Zu diesem Zeitpunkt allerdings wirken sich diese erhöhten Werte anders aus. Seals et al. (2002) konnten bei Kühen, die bereits an einer Uterusinfektion erkrankt waren, niedrigere $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentrationen nachweisen. Liegt bereits eine Infektion vor, fungieren Prostaglandine als Entzündungsmediatoren und locken beispielsweise neutrophile Granulozyten an den Ort der Entzündung (Hoedemaker et al. 1992), verbessern die Phagozytose (Hoedemaker et al. 1992, Lewis 2003) sowie die Chemotaxis (Hoedemaker et al. 1992, Sheldon et al. 2009). Dies könnte den Prozess der Selbstreinigung nach uteriner Keimbeseidlung positiv beeinflussen und dazu führen, dass solche Tiere keine Gebärmutterentzündung entwickeln. Die postpartal signifikant höheren Konzentrationen der Octadecadiensäure bei gesunden Tieren könnten dazu beitragen, dass vermehrt Prostaglandine der Serie-2 hergestellt werden. Dies wiederum könnte zusammen mit den ebenfalls erhöhten Konzentrationen der Eicosatetraensäure bei diesen Tieren den Selbstreinigungsprozess des Uterus unterstützen.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Omega-3-Fettsäuren, die Octadecatriensäure (C18:3n3) und die Docosahexaensäure (C22:6n3), bestimmt. Beide Fettsäuren zeigten bei uteruskranken Tieren im Vergleich zu den uterusgesunden bis zum vierten Tag p.p. höhere Medianwerte. Jedoch bestand nur bei der Docosahexaensäure antepartal ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Tiergruppen ($P < 0,05$). Ab dem elften Tag p.p. traten bei den gesunden Kühen höhere Medianwerte der Konzentration der beiden Fettsäuren auf. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen zeigten sich nur bei der Octadecatriensäure ($P < 0,05$). In der Literatur wird Omega-3-Fettsäuren eine antiinflammatorische Wirkung nachgesagt (Calder 1995, Jeffery et al. 1996, Staples et al. 2008). Verschiedene Autoren konnten dies in ihren Versuchen nachweisen (Endres et al. 1989, Schmidt et al. 1992, Jeffery et al. 1996, Staples et al. 1998, Bechoua et al. 1999, Gagnon et al. 2000, Calder 2001). Die antepartal signifikant höheren Konzentrationen der Docosahexaensäure bei uterusgesunden Tieren könnten durch ihre antiinflammatorische Wirkung eine Verstärkung der peripartalen Immunsuppression hervorrufen. Ein dadurch bedingtes erhöhtes Risiko für peripartale Infektionen wäre die Folge. So verursachen erhöhte Konzentrationen an Docosahexaensäure eine verminderte Antigen-Präsentation (Inoguchi et al. 2000). Weiterhin hemmen hohe Konzentrationen an Omega-3-Fettsäure die Chemotaxis neutrophiler Granu-

lozyten (Schmidt et al. 1992, Chassagne et al. 1998, Calder 2001, Overton 2001) sowie die Proliferation von Lymphozyten (de Pablo et al. 1998, Gagnon et al. 2000). Während bei Staples et al. (2008) Omega-3-Fettsäuren negative Auswirkungen auf die Phagozytose zeigten und die Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut herabsenkten, sind Kew. et al. (2003a) der Meinung, dass erhöhte Konzentrationen an Omega-3-Fettsäuren die Phagozytose verbessern. Allerdings ist diese Verbesserung abhängig von dem Verhältnis zu Omega-6-Fettsäuren. In der vorliegenden Literatur wird die Wirkung der Octadecatriensäure auf das Immunsystem nicht betrachtet. Jedoch ist zu beachten, dass diese Fettsäure in andere Omega-3-Fettsäuren, wie z.B. die Docosahexaensäure und die Eicosapentaensäure, umgewandelt wird. Ob sich die postpartal bei uterusgesunden Tieren im Vergleich zu uteruskranken Tieren auftretenden höheren Medianwerte dieser Fettsäure positiv auf den Immunstatus dieser Kühe auswirken, ist unklar.

Informationen über die individuelle Bedeutung der Fettsäuren Tetradekansäure (C14:0), Hexadecaensäure (C16:1), Octadecansäure (C18:0), Eicosansäure (C20:0), Docosansäure (C22:0), Tetracosansäure (C24:0) und Tetracosensäure (C24:1) für das Immunsystem konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Einzelne Fettsäuren wurden in Fettsäuregemischen für In-vitro-Versuche verwendet. Hohe Konzentrationen dieser Fettsäuregemische waren in der Lage spezifische Funktionen von Abwehrzellen zu hemmen (Lacetera et al. 2004, Scalia et al. 2006). In der vorliegenden Studie fällt auf, dass zum Zeitpunkt der Infektion die Medianwerte der Konzentrationen dieser zuvor genannten Fettsäuren bei den uteruskranken Tieren im Vergleich zu den gesunden höher liegen. So traten bei den Fettsäuren Tetradekansäure, Docosansäure, Tetracosansäure und Tetracosensäure um die Kalbung herum signifikante Unterschiede zwischen den Medianwerten beider Tiergruppen auf ($P < 0,05$). Damit könnte es bei uteruskranken Kühen in diesem kritischen Zeitraum durch die erhöhten Fettsäurekonzentrationen zu einer Funktionshemmung von Immunzellen kommen. Dies könnte sich in Form von Hemmung der Sekretion von IgM und IFN γ durch Lymphozyten sowie einer verminderten DNA-Synthese durch diese Zellen zeigen (Lacetera et al. 2004). Auch negative Auswirkungen auf den Oxidative Burst oder eine verstärkte Nekrose der Abwehrzellen könnten zur Suppression des Immunsystems dieser Tiere beitragen (Scalia et al. 2006). Dass Leukozyten durch ihrer Funktion als Phagozyten die initiale Abwehr gegen bakterielle Invasion bilden und somit essentiell sind für eine erfolgreiche Bekämpfung von Infektionserregern, wird von zahlreichen Autoren bestätigt (Lewis 1997, Dhaliwal et al. 2001, Sheldon und Dobson 2004, Földi et al. 2006, Hammon et al. 2006, Sheldon et al. 2009). Eine Beeinträchtigung dieser Zellen führt somit zu einer verminderten Abwehrkapazität und erhöht das Risiko für die Entstehung von Infektionen.

5.4 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass sich die Konzentrationen und die Zusammensetzung der Fettsäuren im Blut bei Tieren, die im Verlauf des Puerperiums an Gebärmutterentzündungen erkranken, von Tieren, die nicht erkranken, schon im unmittelbaren peripartalen Zeitraum unterscheiden. Es ist anzunehmen, dass Zusammenhänge zwischen einzelnen Fettsäurekonzentrationen, dem Immunsystem und den Reproduktionsorganen bestehen und die Fettsäuren einen Einfluss auf das Immunsystem und die Reproduktionsorgane haben. Diese Erkenntnisse können zur weiteren Aufklärung der Pathogenese uteriner Erkrankungen sowie zur Entwicklung von Methoden zur Prophylaxe und Therapie dieser Erkrankungen beitragen.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war die quantitative und qualitative Bestimmung der Gesamtfettsäuren in bovinen Serumproben sowie die Darstellung der Konzentrationsverläufe der einzelnen Fettsäuren während des peripartalen Zeitraums. Des Weiteren sollte festgestellt werden, ob zwischen Kühen, die postpartal an einer Gebärmutterentzündung erkranken, und gesunden Tieren Unterschiede in den Konzentrationen einzelner Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen vorliegen.

Die in dieser Studie verwendeten Serumproben stammen von 50 Kühen eines Milch-erzeugerbetriebes in Brandenburg. Von den ausgewählten Tieren zeigten 25 Tiere während des Untersuchungszeitraums Symptome einer klinischen Gebärmutterentzündung (puerperale Metritis, klinische Metritis, klinische Endometritis oder Pyometra) und wurden demnach als uteruskrank eingestuft. Die anderen 25 Tiere wiesen keine gesundheitlichen Störungen auf und wurden als uterusgesund eingestuft. Von jedem Tier wurden während des Zeitraums 17 Tage vor bis 28 Tage nach der Kalbung sechs bzw. sieben Serumproben gewonnen. Für die quantitative und qualitative Analyse der Gesamtfettsäuren in den Serumproben wurden die Fettsäuren zu Fettsäuremethylestern (FAME) derivatisiert. Die Probenanalyse wurde mit einem Gaschromatographie/Massenspektrometrie-System (GC/MS-System) durchgeführt. Außerdem wurden die Konzentrationen der freien Fettsäuren (NEFA) in den Serumproben mittels Enzym-Test bestimmt.

Sowohl vor wie auch nach der Kalbung konnten bei verschiedenen Fettsäuren Konzentrationsunterschiede zwischen uterusgesunden und uteruskranken Tieren festgestellt werden. Die Konzentrationen der gesättigten Fettsäuren Octadecansäure (C18:0) und Tetradecansäure (C14:0) zeigten in beiden Tiergruppen nach der Kalbung einen leichten Anstieg, wobei die Werte der gesunden Kühe ab dem elften Tag p.p. signifikant höher lagen als bei erkrankten Kühen ($P < 0,05$). Die Konzentrationen der Hexadecansäure (C16:0) hingegen waren kurz nach der Kalbung bei uteruskranken Tieren höher als bei uterusgesunden Tieren ($P < 0,05$).

Die Konzentration der ungesättigten Fettsäure Octadecaensäure (C18:1n9) lag bei uteruskranken Tieren im Vergleich zu gesunden Tieren zwischen dem ersten und vierten Tag p.p. signifikant höher ($P < 0,05$). Postpartal traten bei gesunden Kühen signifikant höhere Konzentrationen der Octadecadiensäure (C18:2n6) und der Octadecatriensäure (C18:3n3) auf als bei an Gebärmutterentzündung erkrankten Tieren ($P < 0,05$).

Die Konzentrationen der Gesamtfettsäuren stiegen nach der Kalbung in beiden Tiergruppen an und lagen bei gesunden Kühen ab dem 21. p.p. Tag signifikant höher ($P < 0,05$).

Die freien Fettsäuren (NEFA) zeigten in beiden Tiergruppen unmittelbar nach der Kalbung einen vorübergehenden Anstieg. Dabei lagen die Werte der uteruskranken Tiere während des gesamten Untersuchungszeitraums deutlich über denen der uterusgesunden, bis zum elften Tag p.p. war der Unterschied signifikant ($P < 0,05$).

Bei der Analyse der Fettsäuregruppen konnte über den gesamten Untersuchungszeitraum in beiden Tiergruppen eine stetige Abnahme der Anteile der gesättigten Fettsäuren (SFA) festgestellt werden. Die Anteile der einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) stiegen in beiden Tiergruppen im Untersuchungszeitraum vorübergehend an, die Anteile der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) nahmen bei uterusgesunden wie uteruskranken Tieren vorübergehend ab. Während des gesamten Untersuchungszeitraums traten bei uterusgesunden Kühen im Vergleich zu uteruskranken Kühen signifikant höhere Anteile der MUFA auf ($P < 0,05$). Die Anteile der PUFA hingegen lagen zu fast allen Untersuchungszeiten bei uterusgesunden Tieren signifikant höher als bei den uteruskranken Tieren ($P < 0,05$).

Zur Kalbung hin nahm der Anteil der Omega-3-Fettsäuren in beiden Tiergruppen ab, anschließend stieg er vor allem bei den gesunden Tieren an und lag zum Ende des Untersuchungszeitraums signifikant über denen der erkrankten Tiere ($P < 0,05$). Der Anteil der Omega-6-Fettsäuren stieg in beiden Tiergruppen nach der Kalbung an und lag während des gesamten Untersuchungszeitraums bei den uterusgesunden Tieren höher als bei den uteruskranken Tieren. Signifikante Unterschiede zwischen den Fettsäurekonzentrationen beider Tiergruppen traten zu den Untersuchungszeiten -2, 4 und 11 auf ($P < 0,05$). Die Anteile der Omega-9-Fettsäuren wiesen in beiden Gruppen einen vorübergehenden Anstieg auf, dabei lagen die Anteile der erkrankten Tiere stets über denen der gesunden ($P < 0,05$).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass sich die Konzentrationen und die Zusammensetzung der Fettsäuren im Blut bei Tieren, die im Verlauf des Puerperiums an Gebärmutterentzündungen erkrankten, von Tieren, die nicht erkrankten, schon im unmittelbaren peripartalen Zeitraum unterscheiden. Es ist anzunehmen, dass funktionelle Zusammenhänge zwischen einzelnen Fettsäurekonzentrationen sowie dem Immun- und Reproduktionssystem bestehen und dass Veränderungen der Fettsäurekonzentrationen einen Einfluss auf das Immunsystem und die Reproduktionsorgane haben.

7 Summary

The aim of this study was the quantitative and qualitative determination of fatty acids in the serum of dairy cows as well as the course of their concentration over time. Another objective was to find out if it is possible to distinguish uterus diseased cows from uterus healthy ones due to their fatty acid concentration.

All samples used for this study were taken from 50 cows of a dairy farm in Brandenburg. Of the chosen cows, 25 showed signs of a uterus infection (puerperale metritis, clinical metritis, clinical endometritis and pyometra) during the period of examination and were marked as uterus diseased. The other 25 animals did not show any signs of sickness and were marked as uterus healthy. During a period of 17 days before and 28 days after calving six or seven blood samples were taken from every cow. For the quantitative and qualitative analysis of the total fatty acids in the serum samples the fatty acids were derivatised to fatty acid methyl esters (FAME). The analysis of the samples was conducted with a gas chromatography mass spectrometry system (GC/MS). In addition, the concentrations of the non-esterified fatty acids (NEFA) were determined with the aid of an enzymatic test.

Both before and after calving it was possible to detect differences between uterus diseased and uterus healthy cows due to concentration differences in several fatty acids. After calving the concentrations of the saturated fatty acids octadecanoic acid (C18:0) and tetradecanoic acid (C14:0) increased slightly in both groups and the elevation of healthy animals was significantly higher from day 11 p.p. on ($P < 0,05$). In contrast, the concentrations of hexadecanoic acid (C16:0) were significantly higher for uterus diseased animals shortly after calving compared to diseased ones ($P < 0,05$).

Around calving the concentrations of the unsaturated fatty acid octadecaenoic acid (C18:1n9) were significantly higher for the healthy cows than for the diseased ones ($P < 0,05$). After calving higher concentrations of octadecadienoic acid (C18:2n6) and octadecatrienoic acid (C18:3n3) were detected for uterus healthy animals ($P < 0,05$).

The concentrations of total fatty acids increased for both groups after calving and were significantly higher for healthy cows from the 21st day p.p. onwards ($P < 0,05$).

In both groups the non-esterified fatty acids (NEFA) showed an increase directly after calving. During the complete period of investigation the magnitudes of uterus diseased cows were considerably below the magnitudes of healthy ones. Until the eleventh day p.p. these differences showed to be significant ($P < 0,05$).

For saturated fatty acids (SFA) a steady decrease of the concentration relative to the total fatty acids concentration was determined for the complete period of investigation. The relative concentrations of monounsaturated fatty acids (MUFA) increased temporarily, whereas the polyunsaturated fatty acids (PUFA) decreased. Even so the MUFA concentrations of uterus healthy cows were significantly above the concentrations of the uterus diseased cows during the whole period of analysis, the PUFA concentrations were at all times significantly higher with uterus healthy cows.

During calving the percentage in both groups first decreased and then subsequently increased mainly with the group of healthy animals to end up above the magnitude of the diseased ones at the end of the period of analysis ($P < 0,05$). The proportion of omega-6 fatty acids increased in both groups after calving. The percentage with the uterus healthy cows was at all times of analysis higher than the one with the uterus diseased cows. Significant differences between the fatty acid concentration of both animal groups were detected 17 to 11 days a.p. as well as 4 and 11 days after calving ($P < 0,05$). The proportion of the omega-9 fatty acids showed in both groups a temporary increase, with the proportion of the diseased animals always above the proportion of the healthy ones ($P < 0,05$).

The outcome of this study proves that the concentration and combination of fatty acids in the blood of animals, which fell ill due to the inflammation of the uterus during the puerperium, can be distinguished from healthy animals immediately during the peripartal period. It can be assumed that there is a functional relation between single concentrations of fatty acids and the immune and reproductive system. Furthermore, it can be assumed that changes in the concentrations of fatty acids influence the immune system and the reproductive organs.

8 Literaturverzeichnis

Abayasekara, D. R. und D. C. Wathes (1999):

Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **61** (5), 275-287.

Adewuyi, A. A., E. Gruys und F. J. van Eerdenburg (2005):

Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. Veterinary Quarterly, **27** (3), 117-126.

Akraim, F., M. C. Nicot, P. Juaneda und F. Enjalbert (2007):

Conjugated linolenic acid (CLnA), conjugated linoleic acid (CLA) and other biohydrogenation intermediates in plasma and milk fat of cows fed raw or extruded linseed. Animal, **1** (6), 835-843.

Almstetter, M. F., I. J. Appel, M. A. Gruber, C. Lottaz, B. Timischl, R. Spang, K. Dettmer und P. J. Oefner (2009):

Integrative normalization and comparative analysis for metabolic fingerprinting by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. Analytical Chemistry, **81** (14), 5731-5739.

Ambrose, D. J. und J. P. Kastelic (2003):

Dietary fatty acids and dairy cow fertility. Advanced Dairy Technology, **15** (1), 35-47.

Arab, L. (2003):

Biomarkers of fat and fatty acid intake. Journal of Nutrition, **133** (Suppl 3), 925S-932S.

Armstrong, J. D., E. A. Goodall, F. J. Gordon, D. A. Rice und W. J. McCaughey (1990):

The effects of levels of concentrate offered and inclusion of maize gluten or fishmeal in the concentrate on reproductive performance and blood parameters of dairy cows. Animal Production, **50** (1), 1-10.

Azawi, O. I. (2008):

Postpartum uterine infection in cattle. Animal Reproduction Science, **105** (3-4), 187-208.

Bach, A. C., Y. Ingenbleek und A. Frey (1996):

The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? Journal of Lipid Research, **37** (4), 708-726.

Baguma-Nibasheka, M., J. T. Brenna und P. W. Nathanielsz (1999):

Delay of preterm delivery in sheep by omega-3 long-chain polyunsaturates. Biology of Reproduction, **60** (3), 698-701.

Bauchart, D. (1993):

Lipid absorption and transport in ruminants.
Journal of Dairy Science, **76** (12), 3864-3881.

Beam, S. W. und W. R. Butler (1997):

Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat.
Biology of Reproduction, **56** (1), 133-142.

Bechoua, S., M. Dubois, G. Nemoz, P. Chapuy, E. Vericel, M. Lagarde und A. F. Prigent (1999):

Very low dietary intake of n-3 fatty acids affects the immune function of healthy elderly people.
Lipids, **34** (Suppl.), S143.

Bell, A. W. (1995):

Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation.
Journal of Animal Science, **73** (9), 2804-2819.

Bell, M. J. und D. J. Roberts (2007):

The impact of uterine infection on a dairy cow's performance.
Theriogenology, **68** (7), 1074-1079.

Benzaquen, M. E., C. A. Risco, L. F. Archbald, P. Melendez, M. J. Thatcher und W. W. Thatcher (2007):

Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows.
Journal of Dairy Science, **90** (6), 2804-2814.

Bezard, J., J. P. Blond, A. Bernard und P. Clouet (1994):

The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues.
Reproduction, Nutrition, Development, **34** (6), 539-568.

Bilby, C. R., J. F. Bader, B. E. Salfen, R. S. Youngquist, C. N. Murphy, H. A. Garverick, B. A. Crooker und M. C. Lucy (1999):

Plasma GH, IGF-I and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH.
Theriogenology, **51** (7), 1285-1296.

Bilby, T. R., J. Block, B. C. do Amaral, O. Sa Filho, F. T. Silvestre, P. J. Hansen, C. R. Staples und W. W. Thatcher (2006a):

Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer.
Journal of Dairy Science, **89** (10), 3891-3903.

Bilby, T. R., A. Guzeloglu, L. A. MacLaren, C. R. Staples und W. W. Thatcher (2006b):

Pregnancy, bovine somatotropin and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: II. Endometrial gene expression related to maintenance of pregnancy.
Journal of Dairy Science, **89** (9), 3375-3385.

Block, S. S., W. R. Butler, R. A. Ehrhardt, A. W. Bell, M. E. Van Amburgh und Y. R. Boisclair (2001):

Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance.

Journal of Endocrinology, **171** (2), 339-348.

Bondurant, R. H. (1999):

Inflammation in the bovine female reproductive tract.

Journal of Animal Science, **77** (Suppl 2), 101-110.

Bousquet, M., M. Saint-Pierre, C. Julien, N. Salem, Jr., F. Cicchetti und F. Calon (2008):

Beneficial effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid on toxin-induced neuronal degeneration in an animal model of Parkinson's disease.

Faseb Journal, **22** (4), 1213-1225.

Bretzlaff, K. (1987):

Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow.

Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, **3** (3), 593-607.

Brickner, A. E., R. R. Rastani und R. R. Grummer (2007):

Technical note: Effect of sampling protocol on plasma nonesterified fatty acid concentration in dairy cows.

Journal of Dairy Science, **90** (5), 2219-2222.

Bruun, J., A. K. Ersboll und L. Alban (2002):

Risk factors for metritis in Danish dairy cows.

Preventive Veterinary Medicine, **54** (2), 179-190.

Büchter, A. und H.-W. Henn (2007):

Elementare Stochastik: Eine Einführung in die Mathematik der Daten und des Zufalls.

Springer Verlag, Berlin, 2. überarbeitete und erweiterte Auflage.

Burke, J. M., C. R. Staples, C. A. Risco, R. L. de la Sota und W. W. Thatcher (1997):

Effect of ruminant grade Menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows.

Journal of Dairy Science, **80** (12), 3386-3398.

Burvenich, C., V. Van Merris, J. Mehrzad, A. Diez-Fraile und L. Duchateau (2003):

Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors.

Veterinary Research, **34** (5), 521-564.

Cai, T.-Q., L. A. Weston, L. A. Brodie, D. J. McKenna und W. C. Wager (1994):

Association between PMN function and periparturient disorders in dairy cows.

American Journal of Veterinary Research, **55** (7), 934-943.

- Caldari-Torres, C., C. Rodriguez-Sallaberry, E. S. Greene und L. Badinga (2006):**
Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F2alpha production by bovine endometrial cells.
Journal of Dairy Science, **89** (3), 971-977.
- Calder, P. C. (1995):**
Fatty acids, dietary lipids and lymphocyte functions.
Biochemical Society Transactions, **23** (2), 302-309.
- Calder, P. C. (1998):**
Dietary fatty acids and lymphocyte functions.
Proceedings of the Nutrition Society, **57** (4), 487-502.
- Calder, P. C. (2001):**
Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity.
Lipids, **36** (9), 1007-1024.
- Calder, P. C. (2008):**
The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function.
Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **79** (3-5), 101-108.
- Calzada, C., E. Vericel und M. Lagarde (1992):**
Lower levels of lipid peroxidation in human platelets incubated with eicosapentaenoic acid.
Biochimica et Biophysica Acta, **1127** (2), 147-152.
- Chapwanya, A. (2008):**
Uterine disease in dairy cows: Classification, diagnosis and key roles for veterinarians.
Irish Veterinary Journal, **61** (3), 183-186.
- Chassagne, M. und J. Barnouin (1992):**
Circulating PG F2alpha and nutritional parameters at parturition in dairy cows with and without retained placenta: Relation to prepartum diet.
Theriogenology, **38** (3), 407-418.
- Chassagne, M., J. Barnouin und J. P. Chacornac (1998):**
Predictive markers in the late gestation period for retained placenta in black-pied dairy cows under field conditions in France.
Theriogenology, **49** (3), 645-656.
- Cheng, Z., R. S. Robinson, P. G. Pushpakumara, R. J. Mansbridge und D. C. Wathes (2001):**
Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow.
Journal of Endocrinology, **171** (3), 463-473.

Correa, M. T., C. R. Curtis, H. N. Erb, J. M. Scarlett und R. D. Smith (1990):

An ecological analysis of risk factors for postpartum disorders of Holstein-Friesian cows from thirty-two New York farms.

Journal of Dairy Science, **73** (6), 1515-1524.

Correa, M. T., H. Erb und J. Scarlett (1993):

Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows.

Journal of Dairy Science, **76** (5), 1305-1312.

Coste, T. C., G. Deumer, G. Reyhler, P. Lebecque, P. Wallemacq und T. Leal (2008):

Influence of pancreatic status and sex on polyunsaturated fatty acid profiles in cystic fibrosis.

Clinical Chemistry, **54** (2), 388-395.

Danet-Desnoyers, G., M. D. Meyer, T. S. Gross, J. W. Johnson und W. W. Thatcher (1995):

Regulation of endometrial prostaglandin synthesis during early pregnancy in cattle: effects of phospholipases and calcium in vitro.

Prostaglandins, **50** (5-6), 313-330.

Davidson, J. A., U. Tiemann, J. G. Betts und P. J. Hansen (1995):

DNA synthesis and prostaglandin secretion by bovine endometrial cells as regulated by interleukin-1.

Reproduction, Fertility and Development, **7** (5), 1037-1043.

de Kruif, A., R. Mansfeld und M. Hoedemaker (2007):

Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.

Enke Verlag, Stuttgart, 2., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage.

de Kruif, A. und J. Leroy (2008):

Reproductive performance in high producing dairy cows.

Leipziger blaue Hefte, **1**, 473 - 476.

de Pablo, M. A., E. Ortega, A. M. Gallego, C. Alvarez, P. L. Pancorbo und G. Alvarez de Cienfuegos (1998):

The effect of dietary fatty acid manipulation on phagocytic activity and cytokine production by peritoneal cells from Balb/c mice.

Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **44** (1), 57-67.

de Pablo, M. A. und G. Alvarez de Cienfuegos (2000):

Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions.

Immunology and Cell Biology, **78** (1), 31-39.

de Vries, A. (2006):

Economic value of pregnancy in dairy cattle.

Journal of Dairy Science, **89** (10), 3876-3885.

Del Vecchio, R. P., D. J. Matsas, S. Fortin, D. P. Sponenberg und G. S. Lewis (1994):

Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F₂α metabolite concentrations in postpartum dairy cows.

Theriogenology, **41** (2), 413-421.

DeMar, J. C., Jr., C. DiMartino, A. W. Baca, W. Lefkowitz und N. Salem, Jr. (2008):

Effect of dietary docosahexaenoic acid on biosynthesis of docosahexaenoic acid from alpha-linolenic acid in young rats.

The Journal of Lipid Research, **49** (9), 1963-1980.

Desvergne, B. und W. Wahli (1999):

Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism.

Endocrine Reviews, **20** (5), 649-688.

DGE (2000):

Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr.

Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Frankfurt/Main, 1. Auflage.

Dhaliwal, G. S., R. D. Murray und Z. Woldehiwet (2001):

Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis.

Animal Reproduction Science, **67** (3-4), 135-152.

Dobson, H., J. E. Tebble, R. F. Smith und W. R. Ward (2001):

Is stress really all that important?

Theriogenology, **55** (1), 65-73.

Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa und J. K. Drackley (2007):

Prepartum nutrition alters fatty acid composition in plasma, adipose tissue and liver lipids of periparturient dairy cows.

Journal of Dairy Science, **90** (6), 2941-2959.

Drackley, J. K. (1999):

Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?

Journal of Dairy Science, **82** (11), 2259-2273.

Drackley, J. K. (2000):

Use of NEFA as a Tool to monitor Energy Balance in Transition Dairy cows.

Illini Dairy Net. The Online Resource for the Dairy Industry

<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairy/net/paperDisplay.cfm?ContentID=330>.

Drackley, J. K., T. R. Overton und G. N. Douglas (2001):

Adaptions of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period.

Journal of Dairy Science, **84** (Suppl. E), E100-E112.

Drackley, J. K. (2004):

Physiological adaptations in transition dairy cows.

In: Proceedings of Minnesota Dairy Herd Health Conference, St. Paul, MN, 74-87.

Drillich, M., O. Beetz, A. Pfützner, M. Sabin, H. J. Sabin, P. Kutzer, H. Nattermann und W. Heu-wieser (2001):

Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows.

Journal of Dairy Science, **84** (9), 2010-2017.

Dyk, P. D. (1995):

The association of prepartum non-esterified fatty acids and body condition with peripartum health problems on 95 michigan dairy farms.

Michigan State University, Master Thesis.

Eerdenburg, F. J. C. M. und S. Adewuyi (2005):

A relationship between the activity and NEFA-level of postpartum dairy cows.

In: Proceedings of 12th International Congress of ISAH, Warsaw, Poland, 225-228.

Elpelt, B. und J. Hartung (2004):

Grundkurs Statistik: Lehr- und Übungsbuch der angewandten Statistik.

Oldenbourg Wissenschaftsverlag, München, 3. Auflage.

Emery, R. S., J. S. Liesman und T. H. Herdt (1992):

Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver.

Journal of Nutrition, **122** (Suppl. 3), 832-837.

Endres, S., R. Ghorbani, V. E. Kelley, K. Georgilis, G. Lonnemann, J. W. van der Meer, J. G. Cannon, T. S. Rogers, M. S. Klempner, P. C. Weber und et al. (1989):

The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of inter-leukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells.

New England Journal of Medicine, **320** (5), 265-271.

Engelhardt, W. v. und G. Breves (2000):

Physiologie der Haustiere.

Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1. Auflage.

Euler, C. (2009):

Zusammenhänge zwischen peripartalen Veränderungen stoffwechselrelevanter Blutserum-, Milch- und Körperkonditionsparameter und Erkrankungen der Gebärmutter.

Ludwig-Maximilians-Universität München, Tierärztlichen Fakultät, Dissertation.

Evans, L., S. Patton, R. D. McCarthy, . und J. Dairy Sci. (1961):

Fatty Acid Composition of the Lipid Fractions from Bovine Serum Lipoproteins.

Journal of Dairy Science, **44**, 475-482.

Filley, S. J., H. A. Turner und F. Stormshak (2000):

Plasma fatty acids, prostaglandin F₂α metabolite and reproductive response in postpartum heifers fed rumen bypass fat.

Journal of Animal Science, **78** (1), 139-144.

Földi, J., M. Kulcsar, A. Pecs, B. Huyghe, C. de Sa, J. A. Lohuis, P. Cox und G. Huszenicza (2006):

Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle.

Animal Reproduction Science, **96** (3-4), 265-281.

Formigoni, A. und E. Trevisi (2003):

Transition cow: interaction with fertility.

Veterinary Research Communications, **27** (Suppl.), 143-152.

Gagnon, N., H. V. Petit und M. Lessard (2000):

Dietary supplementation with n-3 fatty acid suppresses mononuclear cell proliferation in dairy cows.

American Journal of Reproductive Immunology, **43** (6), 336.

Garnsworthy, P. C. und R. Webb (1999):

The influence of nutrition on fertility in dairy cows.

In: J. Wiseman und P.C. Garnsworthy (Hrsg.): Recent developments in ruminant nutrition, Nottingham University Press, Nottingham, 499-516.

Gautam, G., T. Nakao, K. Koike, S. T. Long, M. Yusuf, R. M. Ranasinghe und A. Hayashi (2010):

Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows.

Theriogenology, **73** (2), 168-179.

Gil, A. (2002):

Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases.

Biomedicine & Pharmacotherapy, **56** (8), 388-396.

Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard und H. N. Erb (1998):

Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows.

Theriogenology, **49** (1), 251.

Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb und M. Frajblat (2005):

Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows.

Theriogenology, **64** (9), 1879-1888.

Goff, J. P. und R. L. Horst (1997):

Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.

Journal of Dairy Science, **80** (7), 1260-1268.

Goto, R. und C. G. Mascie-Taylor (2007):

Precision of measurement as a component of human variation.

Journal of Physiological Anthropology, **26** (2), 253-256.

Graham, J., S. Franks und R. C. Bonney (1994):

In vivo and in vitro effects of gamma-linolenic acid and eicosapentaenoic acid on prostaglandin production and arachidonic acid uptake by human endometrium.

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **50** (6), 321-329.

Gröhn, Y. T. und P. J. Rajala-Schultz (2000):

Epidemiology of reproductive performance in dairy cows.

Animal Reproduction Science, **60-61**, 605-614.

Grummer, R. R. und D. J. Carroll (1991):

Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle.

Journal of Animal Science, **69** (9), 3838-3852.

Grummer, R. R. (1993):

Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows.

Journal of Dairy Science, **76** (12), 3882-3896.

Grummer, R. R. (1995):

Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow.

Journal of Animal Science, **73** (9), 2820-2833.

Grummer, R. R., D. G. Mashek und A. Hayirli (2004):

Dry matter intake and energy balance in the transition period.

Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, **20** (3), 447-470.

Grunert, E. (1990):

Weiblicher Geschlechtsapparat und Euter.

In: G. Dirksen, Gründer H.-D. und Stöber M. (Hrsg.): Die klinische Untersuchung des Rindes, Parey Verlag, Berlin, 3. Auflage, 472- 548.

Gunnink, J. W. (1984):

Pre-partum leucocytic activity and retained placenta.

Veterinary Quarterly, **6** (2), 52-54.

Hammon, D. S., I. M. Evjen, T. R. Dhiman, J. P. Goff und J. L. Walters (2006):

Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders.

Veterinary Immunology and Immunopathology, **113** (1-2), 21-29.

Harbige, L. S. (2003):

Fatty acids, the immune response and autoimmunity: a question of n-6 essentiality and the balance between n-6 and n-3.

Lipids, **38** (4), 323-341.

Hawk, H. W., T. H. Brinsfield, G. D. Turner, G. W. Whitmore und M. A. Norcross (1964):

Effect of ovarian status on induced acute inflammatory responses in cattle uteri.

American Journal of Veterinary Research, **25**, 362-366.

Hessel, E., J. J. Agren, M. Paulitschke, O. Hanninen, A. Hanninen und D. Lerche (1990):

Freshwater fish diet affects lipid composition, deformability and aggregation properties of erythrocytes.

Atherosclerosis, **82** (1-2), 37-42.

Hocquette, J. F. und D. Bauchart (1999):

Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals.

Reproduction, Nutrition, Development, **39** (1), 27-48.

Hoeben, D., R. Heynema und C. Burvenich (1997):

Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine PMN's.

Veterinary Immunology and Immunopathology, **58** (2), 165-170.

Hoedemaker, M., L. A. Lund und W. C. Wagner (1992):

Function of neutrophils and chemoattractant properties of fetal placental tissue during the last month of pregnancy in cows.

American Journal of Veterinary Research, **53** (9), 1530.

Inoguchi, T., P. Li, F. Umeda, H. Y. Yu, M. Kakimoto, M. Imamura, T. Aoki, T. Etoh, T. Hashimoto, M. Naruse, H. Sano, H. Utsumi und H. Nawata (2000):

High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells.

Diabetes, **49** (11), 1939-1945.

Ishikawa, Y., K. Nakada, K. Hagiwara, R. Kirisawa, H. Iwai, M. Moriyoshi und Y. Sawamukai (2004):

Changes in interleukin-6 concentration in peripheral blood of pre- and post-partum dairy cattle and its relationship to postpartum reproductive diseases.

Journal of Veterinary Medical Science, **66** (11), 1403-1408.

Jeffery, N. M., P. Sanderson, E. J. Sherrington, E. A. Newsholme und P. C. Calder (1996):

The ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat diet alters serum lipid levels and lymphocyte functions.

Lipids, **31** (7), 737-745.

Jiye, A., J. Trygg, J. Gullberg, A. I. Johansson, P. Jonsson, H. Antti, S. L. Marklund und T. Moritz (2005):

Extraction and GC/MS Analysis of the Human Blood Plasma Metabolome.

Analytical Chemistry, **77** (24), 8086-8094.

Jones, B., A. Bowen, M. Martin und R. Ax (2008):

Dietary Essential Fatty Acids and Reproduction in Dairy Cows.

In: Proceedings of High Plains Dairy Conference, Industry Presentation, 17-24.

Jorritsma, R., H. Jorritsma, Y. H. Schukken und G. H. Wentink (2000):

Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds.

Theriogenology, **54** (7), 1065-1074.

Jorritsma, R., M. W. de Groot, P. L. Vos, T. A. Kruip, T. Wensing und J. P. Noordhuizen (2003):

Acute fasting in heifers as a model for assessing the relationship between plasma and follicular fluid NEFA concentrations.

Theriogenology, **60** (1), 151-161.

Jorritsma, R., M. L. Cesar, J. T. Hermans, C. L. Kruitwagen, P. L. Vos und T. A. Kruip (2004):

Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes in vitro.

Animal Reproduction Science, **81** (3-4), 225-235.

Kaneene, J. B. und R. Miller (1995):

Risk factors for metritis in Michigan dairy cattle using herd- and cow-based modeling approaches.

Preventive Veterinary Medicine, **23** (1), 183–200.

Kaneene, J. B., R. Miller, T. H. Herdt und J. C. Gardiner (1997):

The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows.

Preventive Veterinary Medicine, **31** (1-2), 59-72.

Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton und W. H. Johnson (2004):

Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows.

Theriogenology, **62** (1-2), 9-23.

Kaspar, H., K. Dettmer, W. Gronwald und P. J. Oefner (2008):

Automated GC-MS analysis of free amino acids in biological fluids.

Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences, **870** (2), 222-232.

Kay, J. K., J. R. Roche, E. S. Kolver, N. A. Thomson und L. H. Baumgard (2005):

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.

Journal of Dairy Research, **72** (3), 322-332.

Kelton, D. F., K. D. Lissemore und R. E. Martin (1998):

Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle.

Journal of Dairy Science, **81** (9), 2502-2509.

Kendrick, K. W., T. L. Bailey, A. S. Garst, A. W. Pryor, A. Ahmadzadeh, R. M. Akers, W. E. Eye-stone, R. E. Pearson und F. C. Gwazdauskas (1999):

Effects of energy balance of hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration.

Journal of Dairy Science, **82** (8), 1731-1741.

Kew, S., T. Banerjee, A. M. Minihane, Y. E. Finnegan, R. Muggli, R. Albers, C. M. Williams und P. C. Calder (2003a):

Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function.

American Journal of Clinical Nutrition, **77** (5), 1287-1295.

Kew, S., S. Wells, F. Thies, G. P. McNeill, P. T. Quinlan, G. T. Clark, H. Dombrowsky, A. D. Postle und P. C. Calder (2003b):

The effect of eicosapentaenoic acid on rat lymphocyte proliferation depends upon its position in dietary triacylglycerols.

Journal of Nutrition, **133** (12), 4230-4238.

Kim, I. H. und H. G. Kang (2003):

Risk factors for postpartum endometritis and the effect of endometritis on reproductive performance in dairy cows in Korea.

The Journal of Reproduction and Development, **49** (6), 485-491.

Kimura, K., J. P. Goff, M. E. Kehrli und T. A. Reinhardt (2002):

Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle.

Journal of Dairy Science, **85** (3), 544-550.

Kimura, K., T. A. Reinhardt und J. P. Goff (2006):

Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle.

Journal of Dairy Science, **89** (7), 2588-2595.

Kohn, W. (2004):

Statistik. Datenanalyse und Wahrscheinlichkeitsrechnung.

Springer Verlag, Berlin, 1. Auflage.

Krämer, W. (2001):

Statistik verstehen - eine Gebrauchsanweisung.

Piper, München, 4. Auflage.

Kuhara, T. (2005):

Gas chromatographic-mass spectrometric urinary metabolome analysis to study mutations of inborn errors of metabolism.

Mass Spectrometry Reviews, **24** (6), 814-827.

Lacasse, P., J. J. Kennelly, L. Delbecchi und C. E. Ahnadi (2002):

Addition of protected and unprotected fish oil to diets for dairy cows. I. Effects on the yield, composition and taste of milk.

Journal of Dairy Research, **69** (4), 511-520.

Lacetera, N., O. Franci, D. Scalia, U. Bernabucci, B. Ronchi und A. Nardone (2002):

Effects of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate on function of mononuclear cells obtained from ewes.

American Journal of Veterinary Research, **63** (3), 414-418.

Lacetera, N., D. Scalia, O. Franci, U. Bernabucci, B. Ronchi und A. Nardone (2004):

Short communication: effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers.

Journal of Dairy Science, **87** (4), 1012-1014.

Lacetera, N., D. Scalia, U. Bernabucci, B. Ronchi, D. Pirazzi und A. Nardone (2005):

Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition.

Journal of Dairy Science, **88** (6), 2010-2016.

Larsen, L. N., K. Horvik, H. I. Sorensen und J. Bremer (1997):

Polyunsaturated thia- and oxa-fatty acids: incorporation into cell-lipids and their effects on arachidonic acid- and eicosanoid synthesis.

Biochimica et Biophysica Acta, **1348** (3), 346-354.

LeBlanc, S. (2005):

Overall reproductive performance of canadian dairy cows: challenges we are facing.

Advances in Dairy Technology, **17**, 137-148.

LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton und W. H. Johnson (2002a):

The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows.

Journal of Dairy Science, **85** (9), 2237-2249.

LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton und W. H. Johnson (2002b):

Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows.

Journal of Dairy Science, **85** (9), 2223-2236.

LeBlanc, S. J., K. E. Leslie und T. F. Duffield (2005):

Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle.

Journal of Dairy Science, **88** (1), 159-170.

LeBlanc, S. J. (2008):

Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review.

Veterinary Journal, **176** (1), 102-114.

Lee, J. I. und I. H. Kim (2007):

Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact.

Journal of Veterinary Science, **8** (3), 283-288.

Lehmann, T. M. (2005):

Handbuch der medizinischen Informatik.

Hanser, München, 2. Auflage.

Lepage, G. und C. C. Roy (1988):

Specific methylation of plasma nonesterified fatty acids in a one-step reaction.

Journal of Lipid Research, **29** (2), 227-235.

Leroy, J. L., T. Vanholder, J. R. Delanghe, G. Opsomer, A. Van Soom, P. E. Bols und A. de Kruif (2004):

Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows.

Animal Reproduction Science, **80** (3-4), 201-211.

Leroy, J. L., T. Vanholder, B. Mateusen, A. Christophe, G. Opsomer, A. de Kruif, G. Genicot und A. Van Soom (2005a):

Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro.

Reproduction, **130** (4), 485-495.

Leroy, J. L. M. R., B. M. T. Vanholder, A. Christophe, und A. d. K. G. Opsomer, G. Genicot, A. van Soom (2005b):

Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro.

Reproduction, **130** 485-495.

Lewis, G. S. (1997):

Uterine health and disorders.

Journal of Dairy Science, **80** (5), 984-994.

Lewis, G. S. (2003):

Steroid regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock.

Reproductive Biology and Endocrinology, **1**, 117.

Lim, H., R. A. Gupta, W. G. Ma, B. C. Paria, D. E. Moller, J. D. Morrow, R. N. DuBois, J. M. Trzaskos und S. K. Dey (1999):

Cyclo-oxygenase-2-derived prostacyclin mediates embryo implantation in the mouse via PPARdelta.

Genes & Development, **13** (12), 1561-1574.

Listenberger, L. L., D. S. Ory und J. E. Schaffer (2001):

Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway.

The Journal of Biological Chemistry, **276** (18), 14890-14895.

Loeffler, S. H., M. J. de Vries und Y. H. Schukken (1999):

The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows.
Journal of Dairy Science, **82** (12), 2589-2604.

Löffler, G. (2002):

Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie,
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 5., komplett überarbeitete und aktualisierte Auflage.

Lu, Z. H., Y. M. Mu, B. A. Wang, X. L. Li, J. M. Lu, J. Y. Li, C. Y. Pan, T. Yanase und H. Nawata (2003):

Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell.

Biochemical and Biophysical Research Communications, **303** (4), 1002-1007.

Lucy, M. C., C. R. Staples, F. M. Michel, W. W. Thatcher und D. J. Bolt (1991):

Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F2 alpha, luteinizing hormone, and follicular growth.

Journal of Dairy Science, **74** (2), 483-489.

Lucy, M. C. (2001):

Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?

Journal of Dairy Science, **84** (6), 1277-1293.

MacLaren, L. A., A. Guzeloglu, T. R. Bilby, F. Michel und W. W. Thatcher (2003):

Expression of peroxisome proliferators-activated receptors (PPARs) in bovine endometrium.

Biology of Reproduction, **68** (Suppl 1), 264 (Abstract).

Mashek, D. G., S. J. Bertics und R. R. Grummer (2002):

Metabolic fate of long-chain unsaturated fatty acids and their effects on palmitic acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes.

Journal of Dairy Science, **85** (9), 2283-2289.

Masood, A., K. D. Stark und N. Salem (2005):

A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies.

Journal of Lipid Research, **46**, 2299-2305.

Mateus, L., L. Lopes da Costa, H. Carvalho, P. Serra und J. Robalo Silva (2002a):

Blood and intrauterine leukocyte profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis.

Reproduction in Domestic Animals, **37** (3), 176-180.

Mateus, L., L. L. da Costa, F. Bernardo und J. R. Silva (2002b):

Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows.

Reproduction in Domestic Animals, **37** (1), 31-35.

Mateus, L., L. Lopes da Costa, P. Diniz und A. J. Ziecik (2003):

Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE₂ and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis.

Animal Reproduction Science, **76** (3-4), 143-154.

Mattos, R., C. R. Staples und W. W. Thatcher (2000):

Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants.

Reviews of Reproduction, **5** (1), 38-45.

Mattos, R., C. R. Staples, J. Williams, A. Amoroch, M. A. McGuire und W. W. Thatcher (2002):

Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal.

Journal of Dairy Science, **85** (4), 755-764.

Mattos, R., A. Guzeloglu, L. Badinga, C. R. Staples und W. W. Thatcher (2003):

Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F₂ alpha and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A₂ in bovine endometrial cells.

Biology of Reproduction, **69** (3), 780-787.

Mattos, R., C. R. Staples, A. Artech, M. C. Wiltbank, F. J. Diaz, T. C. Jenkins und W. W. Thatcher (2004):

The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF₂alpha, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows.

Journal of Dairy Science, **87** (4), 921-932.

Melendez, P., M. P. Marin, J. Robles, C. Rios, M. Duchens und L. Archbald (2009):

Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows.

Theriogenology, **72** (6), 826-833.

Morimoto, K. C., A. L. Van Eenennaam, E. J. DePeters und J. F. Medrano (2005):

Endogenous production of n-3 and n-6 fatty acids in mammalian cells.

Journal of Dairy Science, **88** (3), 1142-1146.

Moussavi, A. R., R. O. Gilbert, T. R. Overton, D. E. Bauman und W. R. Butler (2007):

Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on ovarian and uterine responses in early lactating dairy cows.

Journal of Dairy Science, **90** (1), 145-154.

Mu, Y. M., T. Yanase, Y. Nishi, A. Tanaka, M. Saito, C. H. Jin, C. Mukasa, T. Okabe, M. Nomura, K. Goto und H. Nawata (2001):

Saturated FFAs, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells.

Endocrinology, **142** (8), 3590-3597.

Nguyen, P., V. Leray, M. Diez, S. Serisier, J. Le Bloch, B. Siliart und H. Dumon (2008):

Liver lipid metabolism.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, **92** (3), 272-283.

Noble, R. C. (1979):

Lipid metabolism in the neonatal ruminant.
Progress in Lipid Research, **18** (4), 179-216.

Opsomer, G., Y. T. Grohn, J. Hertl, M. Coryn, H. Deluyker und A. de Kruif (2000):

Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study.
Theriogenology, **53** (4), 841-857.

Overton, T. R. und M. S. Piepenbrink (1999):

Liver metabolism and the transition cow.
In: Proceedings of Cornell Nutrition Conference, Cornell University, Ithaca, NY, 118-127.

Overton, T. R. (2001):

Transition cow programs. The good, the bad, and how to keep them from getting ugly.
Advanced Dairy Science and Technology, **13**, 17-26.

Overton, T. R. (2002):

Transition cow programs - Management and Metabolism.
In: Proceedings of Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY, 1-12.

Paisley, L. G., W. D. Mickelsen und P. B. Anderson (1986):

Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review.
Theriogenology, **25** (3), 353-381.

Patterson, A. C. und K. D. Stark (2008):

Direct determinations of the fatty acid composition of daily dietary intakes incorporating nutraceuticals and functional food strategies to increase n-3 highly unsaturated fatty acids.
Journal of the American College of Nutrition, **27** (5), 538-546.

Peter, A. I. und W. I. Bosu (1988):

Influence of intrauterine infections and follicular development on the response to GnRH administration in postpartum dairy cows.
Theriogenology, **29** (5), 1163-1175.

Peterson, L. D., N. M. Jeffery, F. Thies, P. Sanderson, E. A. Newsholme und P. C. Calder (1998):

Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandin E2 production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity.
Lipids, **33** (2), 171-180.

Petit, H. V. (2002):

Effects of fatty acids on reproduction in the dairy cow: the good and the bad.
In: Proceedings of Pacific North West Animal Nutrition Conference, Vancouver, BC, Canada, 1-14.

Petit, H. V., C. Germiquet und D. Lebel (2004):

Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows.

Journal of Dairy Science, **87** (11), 3889-3898.

Petit, H. V., M. F. Palin und L. Doepel (2007):

Hepatic lipid metabolism in transition dairy cows fed flaxseed.

Journal of Dairy Science, **90** (10), 4780-4792.

Raederstorff, D. und U. Moser (1992):

Influence of an increased intake of linoleic acid on the incorporation of dietary (n-3) fatty acids in phospholipids and on prostanoid synthesis in rat tissues.

Biochimica et Biophysica Acta, **1165** (2), 194-200.

Ramadan, A. A., G. L. r. Johnson und G. S. Lewis (1997):

Regulation of uterine immune function during the estrous cycle and in response to infectious bacteria in sheep.

Journal of Animal Science, **75** (6), 1621-1632.

Reid, I. M., S. M. Dew und R. A. Collins (1983):

The relationship between fatty liver and fertility in dairy cows: a farm investigation.

The Journal of Agricultural Science, **101** (2), 499-502.

Ringbom, T., U. Huss, A. Stenholm, S. Flock, L. Skattebol, P. Perera und L. Bohlin (2001):

Cox-2 inhibitory effects of naturally occurring and modified fatty acids.

Journal of Natural Products, **64** (6), 745-749.

Robinson, R. S., Z. Cheng, D. C. Wathes und D. R. E. Abayasekara (1998):

Effect of dietary polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on bovine luteal cell steroidogenesis in vitro.

Journal of Endocrinology, **159** (Suppl.), P67.

Robinson, R. S., P. G. Pushpakumara, Z. Cheng, A. R. Peters, D. R. Abayasekara und D. C. Wathes (2002):

Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows.

Reproduction, **124** (1), 119-131.

Roche, H. M. (1999):

Unsaturated fatty acids.

Proceedings of the Nutrition Society, **58** (2), 397-401.

Rodriguez-Martinez, H., D. McKenna, P. G. Weston, H. L. Whitmore und B. K. Gustafsson (1987):

Uterine motility in the cow during the estrous cycle. I. Spontaneous activity.

Theriogenology, **27** (2), 337-348.

Rukkwamsuk, T., T. Wensing und M. J. Geelen (1998):

Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period.

Journal of Dairy Science, **81** (11), 2904-2911.

Rukkwamsuk, T., T. Wensing und T. A. Kruip (1999a):

Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and first ovulation in postpartum dairy cows.

Theriogenology, **51** (6), 1133-1142.

Rukkwamsuk, T., T. A. Kruip, G. A. Meijer und T. Wensing (1999b):

Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period.

Journal of Dairy Science, **82** (2), 280-287.

Rukkwamsuk, T., M. J. Geelen, T. A. Kruip und T. Wensing (2000):

Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum.

Journal of Dairy Science, **83** (1), 52-59.

Scalia, D., N. Lacetera, U. Bernabucci, K. Demeyere, L. Duchateau und C. Burvenich (2006):

In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability.

Journal of Dairy Science, **89** (1), 147-154.

Schmidt, E. B., K. Varming, J. O. Pedersen, H. H. Lervang, N. Grunnet, C. Jersild und J. Dyerberg (1992):

Long-term supplementation with n-3 fatty acids, II: Effect on neutrophil and monocyte chemotaxis.

Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, **52** (3), 229-236.

Scholljegerdes, E. J., S. L. Lake, T. R. Weston, D. C. Rule, G. E. Moss, T. M. Nett und B. W. Hess (2007):

Fatty acid composition of plasma, medial basal hypothalamus, and uterine tissue in primiparous beef cows fed high-linoleate safflower seeds.

Journal of Animal Science, **85** (6), 1555-1564.

Seals, R. C., I. Matamoros und G. S. Lewis (2002):

Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-keto-PGF₂α concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis.

Journal of Animal Science, **80** (4), 1068-1073.

Seals, R. C., M. C. Wulster-Radcliffe und G. S. Lewis (2003):

Uterine response to infectious bacteria in estrous cyclic ewes.

American Journal of Reproductive Immunology, **49** (5), 269-278.

Sheldon, I. M., D. E. Noakes, A. N. Rycroft, D. U. Pfeiffer und H. Dobson (2002):

Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle.

Reproduction, **123** (6), 837-845.

Sheldon, I. M. (2004):

The postpartum uterus.

Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, **20** (3), 569-591.

Sheldon, I. M. und H. Dobson (2004):

Postpartum uterine health in cattle.

Animal Reproduction Science, **82-83**, 295-306.

Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc und R. O. Gilbert (2006):

Defining postpartum uterine disease in cattle.

Theriogenology, **65** (8), 1516-1530.

Sheldon, I. M., E. J. Williams, A. N. Miller, D. M. Nash und S. Herath (2008):

Uterine diseases in cattle after parturition.

The Veterinary Journal, **176** (1), 115-121.

Sheldon, I. M., J. Cronin, L. Goetze, G. Donofrio und H. J. Schuberth (2009):

Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle.

Biology of Reproduction, **81** (6), 1025-1032.

Simopoulos, A. P. (2008):

The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases.

Experimental Biology and Medicine, **233** (6), 674-688.

Singh, J., R. D. Murray, G. Mshelia und Z. Woldehiwet (2008):

The immune status of the bovine uterus during the peripartum period.

The Veterinary Journal, **175** (3), 301-309.

Singh, R. B., H. Mori, J. Chen, S. Mendis, M. Moshiri, S. Zhu, S. H. Kim, R. G. Sy und A. M. Faruqui (1996):

Recommendations for the prevention of coronary artery disease in Asians: a scientific statement of the International College of Nutrition.

Journal of Cardiovascular Risk, **3** (6), 489-494.

Spector, A. A. (1999):

Essentiality of fatty acids.

Lipids, **34** (Suppl.), 1-3.

Spicer, L. J., W. B. Tucker und G. D. Adams (1990):

Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior.

Journal of Dairy Science, **73** (4), 929-937.

Stahl, T. (2005):

Vitamingehalte und Fettsäuremuster in Kamelmilch.

Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für physiologische Chemie, Dissertation.

Staples, C. R., W. W. Thatcher und J. H. Clark (1990):

Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows.

Journal of Dairy Science, **73** (4), 938-947.

Staples, C. R., J. M. Burke und W. W. Thatcher (1998):

Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows.

Journal of Dairy Science, **81** (3), 856-871.

Staples, C. R., B. do Amaral, B. F. Silvestre, C. Caldari-Torres, F. M. Cullens, L. Badinga, J. D. Arthington und W. W. Thatcher (2008):

Immune System Responses to Diseases/Disorders in the Dairy Animal and Potential Effects of Essential Fatty Acids.

In: Proceedings of Department of Animal Sciences, Gainesville, FL, 1-17.

Stevenson, J. S. (1997):

Clinical reproductive physiology of the cow.

In: R. S. Youngquist und W.R. Threlfall (Hrsg.): Current Therapy in Large Animal Theriogenology, Saunders, Philadelphia, 257-267.

Strang, B. D., S. J. Bertics, R. R. Grummer und L. E. Armentano (1998):

Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes.

Journal of Dairy Science, **81** (3), 728-739.

Stulnig, T. M., M. Berger, M. Roden, H. Stingl, D. Raederstorff und W. Waldhausl (2000):

Elevated serum free fatty acid concentrations inhibit T lymphocyte signaling.

The FASEB Journal, **14** (7), 939-947.

Suriyasathaporn, W., C. Heuer, E. N. Noordhuizen-Stassen und Y. H. Schukken (2000):

Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review.

Veterinary Research, **31** (4), 397-412.

Switzer, K. C., D. N. McMurray und R. S. Chapkin (2004):

Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on T-cell membrane composition and function.

Lipids, **39** (12), 1163-1170.

Thatcher, W. W., C. R. Staples, G. Danet-Desnoyers, B. Oldick und E. P. Schmitt (1994):
Embryo health and mortality in sheep and cattle.
Journal of Animal Science, **72** (Suppl. 3), 16-30.

Thatcher, W. W., M. Binelli, J. M. Burke, C. R. Staples, A. D.J. und S. Coelho (1997):
Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium.
Theriogenology, **47** (1), 131-140.

Thatcher, W. W., A. Guzeloglu, R. Mattos, M. Binelli, T. R. Hansen und J. K. Pru (2001):
Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle.
Theriogenology, **56** (9), 1435-1450.

Thatcher, W. W., T. Bilby, C. R. Staples, L. MacLaren und J. Santos (2004):
Effects of polyunsaturated fatty acids on reproductive processes in dairy cattle.
In: Proceedings of Proceedings Southwest, 1-28.

Trujillo, E. P. und K. S. Broughton (1995):
Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acids and ovulation in rats.
Journal of Reproduction and Fertility, **105** (2), 197-203.

Tukey, J. W. (1977):
Exploratory Data Analysis.
Addison & Wesley, Reading, MA, 1. Auflage.

Urich, K. (1990):
Vergleichende Biochemie der Tiere.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 3. Auflage.

Urton, G., M. A. von Keyserlingk und D. M. Weary (2005):
Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis.
Journal of Dairy Science, **88** (8), 2843-2849.

van Knegsel, A. T., H. van den Brand, J. Dijkstra und B. Kemp (2007):
Effects of dietary energy source on energy balance, metabolites and reproduction variables in dairy cows in early lactation.
Theriogenology, **68** (Suppl. 1), S274-280.

Vandehaar, M. J., G. Yousif, B. K. Sharma, T. H. Herdt, R. S. Emery, M. S. Allen und J. S. Liesman (1999):
Effect of energy and protein density of prepartum diets on fat and protein metabolism of dairy cattle in the periparturient period.
Journal of Dairy Science, **82** (6), 1282-1295.

Vanholder, T., J. L. Leroy, A. V. Soom, G. Opsomer, D. Maes, M. Coryn und A. de Kruif (2005):
Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro.
Animal Reproduction Science, **87** (1-2), 33-44.

- Vazquez-Anon, M., S. Bertics, M. Luck, R. R. Grummer und J. Pinheiro (1994):**
Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows.
Journal of Dairy Science, **77** (6), 1521-1528.
- Vernon, R. G. (2005):**
Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver.
Journal of Dairy Research, **72** (4), 460-469.
- Villa-Godoy, A., T. L. Hughes, R. S. Emery, L. T. Chapin und R. L. Fogwell (1988):**
Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows.
Journal of Dairy Research, **71** (4), 1063-1072.
- Waldhier, M. C., K. Dettmer, M. A. Gruber und P. J. Oefner (2010):**
Comparison of derivatization and chromatographic methods for GC-MS analysis of amino acid enantiomers in physiological samples.
Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences, **878** (15-16), 1103-1112.
- Ward, P. F. V., T. W. Scott und B. A. Dawson (1964):**
Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids.
Journal of Nutrition, **124** (4), 556-565.
- Weiß, C. (2005):**
Basiswissen Medizinische Statistik.
Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 3. überarbeitete Auflage.
- Wentink, G. H., V. P. Rutten, T. S. van den Ingh, A. Hoek, K. E. Müller und T. Wensing (1997):**
Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipidosis.
Veterinary Immunology and Immunopathology, **56** (1-2), 77-83.
- Whiteford, L. C. und I. M. Sheldon (2005):**
Association between clinical hypocalcaemia and postpartum endometritis.
The Veterinary Record, **157** (7), 202-203.
- Williams, E. J., D. P. Fischer, D. U. Pfeiffer, G. C. England, D. E. Noakes, H. Dobson und I. M. Sheldon (2005):**
Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle.
Theriogenology, **63** (1), 102-117.
- Young, A., A. J. Thomson, M. Ledingham, F. Jordan, I. A. Greer und J. E. Norman (2002):**
Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term.
Biology of Reproduction, **66** (2), 445-449.

Zachut, M., A. Arieli, H. Lehrer, L. Livshitz, S. Yakoby und U. Moallem (2010):

Effects of increased supplementation of n-3 fatty acids to transition dairy cows on performance and fatty acid profile in plasma, adiposed tissue, and milk fat.

Journal of Dairy Science, **93** (12), 5877-5889.

Zamaria, N. (2004):

Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease.

Reproduction, Nutrition, Development, **44** (3), 273-282.

Zerbe, H., N. Schneider, W. Leibold, T. Wensing, T. A. Kruij and H. J. Schuberth (2000):

Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver.

Theriogenology, **54** (5), 771-786.

Zerbe, H., T. König, H. J. Schuberth und W. Leibold (2005):

Die gestresste Gebärmutter – Ursache für die Gebärmutterentzündung bei der Kuh?

In: Tierärztliche Hochschule Hannover (Hrsg.): Forschung fürs Leben. Schwerpunkt Reproduktionsmedizin, VMK Verlag, Monsheim, 9-11.

9 Anhang

Tabelle 7: Tabellarische Darstellung der wichtigsten Fettsäuren mit Nomenklatur

Kurzformel	Systemischer Name	Trivialname	Formel
C14:0	Tetradecansäure	Myristinsäure	$C_{13}H_{27}COOH$
C16:0	Hexadecansäure	Palmitinsäure	$C_{15}H_{31}COOH$
C16:1	Hexadecaensäure	Palmitoleinsäure	$C_{15}H_{29}COOH$
C18:0	Octadecansäure	Stearinsäure	$C_{17}H_{35}COOH$
C18:1n9	Octadecaensäure	Ölsäure	$C_{17}H_{33}COOH$
C18:2n6	Octadecadiensäure	Linolsäure	$C_{17}H_{31}COOH$
C18:3n3	Octadecatriensäure	Linolensäure	$C_{17}H_{29}COOH$
C20:0	Eicosansäure	Arachinsäure	$C_{19}H_{39}COOH$
C20:4n6	Eicosatetraensäure	Arachidonsäure	$C_{19}H_{31}COOH$
C20:5n3	Eicosapentaensäure	Timnodonsäure	$C_{19}H_{29}COOH$
C22:0	Docosansäure	Behensäure	$C_{21}H_{43}COOH$
C22:6n3	Docosahexaensäure	Cervonsäure	$C_{21}H_{31}COOH$
C24:0	Tetracosansäure	Lignocerinsäure	$C_{23}H_{47}COOH$
C24:1	Tetracosaensäure	Nervensäure	$C_{23}H_{45}COOH$

Tabelle 8: Komponenten des Kalibrationsstandards

Fettsäure	Kurzformel
Dodecansäure	C12:0
Tetradecansäure	C14:0
Hexadecansäure	C16:0
Hexadecaensäure	C16:1
Octadecansäure	C18:0
Octadecaensäure	C18:1n9cis
Octadecadiensäure	C18:2n6
Octadecatriensäure	C18:3n3
Eicosansäure	C20:0
Eicosatetraensäure	C20:4n6
Docosansäure	C22:0
Tetracosansäure	C24:0
Docosahexaensäure	C 22:6n3
Tetracosaensäure	C24:1

Tabelle 9: Komponenten des Internen Standards 1

Fettsäure	Kurzformel
Undecansäure	C11:0
Tridecansäure	C13:0
Pentadecansäure	C15:0
Heptadecansäure	C17:0
Nonadecansäure	C19:0

Tabelle 10: Komponenten des Internen Standards 2

Fettsäure	Kurzformel
Hexadecansäure (U-13C16)	C16:0
Hexadecaensäure (U-13C16)	C16:1
Octadecaensäure (U-13C18)	C18:1n9cis
Octadecadiensäure (U-13C18)	C18:2n6

Tabelle 11: Kalibrierbereiche der einzelnen Fettsäuren

Fettsäure, Kurzformel	r²	Kalibrierbereich in µmol/l
C14:0	0,999566	2,4414 – 1250,0
C16:0	0,999285	2,4414 – 5000,0
C16:1	0,998794	2,4414 – 5000,0
C18:0	0,997743	1,2207 - 5000,0
C18:1n9	0,999109	2,4414 – 10000,0
C18:2n6	0,999231	1,2207 - 5000,0
C18:3n3	0,999115	9,7656 - 5000,0
C20:0	0,999792	2,4414 – 2500,0
C20:4n6	0,99938	4,8828 - 5000,0
C22:0	0,999872	2,4414 – 2500,0
C24:0	0,999348	4,8828 - 2500,0
C22:6n3	0,993443	4,8828 - 1250,0
C24:1	0,999348	2,4414 – 2500,0

10 Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. Rolf Mansfeld bedanke ich mich, dass er mir mit der Überlassung dieses interessanten Themas die Möglichkeit gab, meine Dissertation an der Klinik für Wiederkäuer anzufertigen.

Herrn Prof. Dr. Peter Oefner danke ich herzlich für die wissenschaftliche, moralische und auch finanzielle Unterstützung während des praktischen Teils meiner Doktorarbeit in seinem Institut.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. Rainer Martin bedanken, der mir während der gesamten Anfertigung der Dissertation wissenschaftlich zur Seite stand. Sein Glaube an diese Dissertation sowie seine (oft benötigten) aufmunternden und motivierenden Worte haben wichtige Impulse für die Anfertigung dieser Arbeit geliefert.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Katja Dettmer, die sich mit großer Geduld der Herausforderung stellte, einem Tiermediziner die Geheimnisse der analytischen Chemie zu vermitteln. Ich danke ihr für die gute Betreuung und Unterstützung im Labor.

Bei Frau Dr. Carola Sauter-Louis bedanke ich mich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Ein herzlicher Dank geht an Rita Radloff für ihre immer freundliche Hilfe bei bürokratischen Angelegenheiten.

Den Firmen Böhringer-Ingelheim, Selectavet und Pfizer gilt mein Dank für die gewährte finanzielle Unterstützung im Rahmen dieser Arbeit.

Nadine Nürnberger danke ich für die Unterstützung im Labor während unzähliger Stunden der Probenverarbeitung und -messungen. Ohne ihre allzeit gewährte Hilfe und ihr sonniges Gemüt würde ich vermutlich heute noch im Labor sitzen.

Nicht versäumen will ich, mich bei den Mitarbeitern des Instituts für funktionelle Genomik in Regensburg, die mir stets mit Rat und Tat zu Seite standen, zu bedanken.

Sarah Bittmann gilt ein herzliches Dankeschön für die Hilfe bei der Anfertigung der englischen Zusammenfassung.

Danksagung

Ein besonderer Dank geht an Sophie Schirmer, die mir stets als Freundin und wissenschaftliche Mitarbeiterin zur Seite stand. Vielen Dank für die vielen aufmunternden Gespräche und ein stets offenes Ohr.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Schwester Cathrin Muth, die geduldig Rechtschreibung und Satzbau dieser Doktorarbeit korrigierte.

Mein tiefster Dank geht an meinem Verlobten Roland Kallweit für das sorgfältige Korrekturlesen dieser Arbeit. Durch kritisches Hinterfragen und konstruktive Ratschläge hat er sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ohne Deine Liebe und Deine Geduld hätte ich es niemals geschafft. Danke, dass Du an mich geglaubt hast!

Letztendlich bedanke ich mich herzlich bei meiner Familie und all meinen Freunden für die unzähligen Aufmunterungen in Form von Worten, Schokolade und anderen liebevollen Gesten. Diese moralische und seelische Unterstützung sowie das mir zu jeder Zeit entgegengebrachte Verständnis haben mir gerade in kritischen Phasen dieser Arbeit geholfen, das Ziel nicht aus den Augen zu verlieren.