

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Wolfgang Klee

Dynamik der Serumkonzentration und Ausscheidung von D-Laktat bei jungen Kälbern mit Durchfall

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

von
Nina Susanne Reischer
aus Pfarrkirchen

München 2012

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Klee

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Stangassinger

Tag der Promotion: 21. Juli 2012

Für meinen Papa, der immer bei mir ist,
für meinen Opa, der immer für mich da ist,
und für Hans, der zum Glück zurückgekehrt ist.

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	7
II	LITERATURÜBERSICHT	8
1	Laktatstoffwechsel beim Säugetier	8
1.1	Biochemie.....	8
1.2	L-Laktatstoffwechsel.....	8
1.3	D-Laktatstoffwechsel	9
2	D-Laktatazidose beim Kalb.....	12
2.1	Pansentrinken	12
2.2	Neugeborenendurchfall	14
III	MATERIAL UND METHODEN	19
1	Patientengut	19
2	Haltung und Fütterung.....	19
3	Körpermasse	20
4	Behandlung	20
5	Flüssigkeits- und Elektrolyttherapie	20
6	Untersuchungsplan und –durchführung.....	21
7	Probenbearbeitung.....	26
8	Statistische Auswertung.....	27
IV	ERGEBNISSE	28
1	Angaben zu den Patienten	28
2	Labordiagnostische Befunde im Verlauf.....	28
2.1	D-Laktatkonzentration im Serum.....	28
2.2	D-Laktatausscheidung im Harn.....	31
2.3	D-Laktatausscheidung im Kotwasser.....	32
2.4	Weitere Blutparameter	34
2.4.1	Basenexzess und Anionenlücke	34
2.4.2	Kreatinin- und Harnstoffkonzentration	36
2.4.3	Gesamteiweiß und Albumin.....	38

Inhaltsverzeichnis	V
2.4.4	Hämatokrit.....40
2.5	Bestimmungen im Harn41
2.5.1	Harnvolumen und Harnminutenvolumen.....41
2.5.2	Kreatininkonzentration im Harn.....42
2.5.3	Kreatinin-Clearance43
2.5.4	D-Laktat-Clearance43
2.5.5	Korrelation zwischen D-Laktat-Clearance und Harnminutenvolumen.....45
2.5.6	Eliminationsfraktion von D-Laktat45
2.6	Bestimmungen im Kot45
2.6.1	Kotmasse und Kotwassergehalt45
2.6.2	Kot-pH.....47
2.6.3	Korrelation zwischen Kot-pH und Kot-D-Laktatkonzentration.....47
V	DISKUSSION49
VI	ZUSAMMENFASSUNG62
VII	SUMMARY.....64
VIII	LITERATURVERZEICHNIS66
IX	ANHANG75
1	Verschiedene Blutparameter.....75
2	D-Laktatkonzentration im Harn79
3	D-Laktatkonzentration im Kotwasser.....79
X	DANKSAGUNG80

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AL	Anionenlücke
BE	Basenexzess
BD	Basendefizit
D-LDH	D-Laktatdehydrogenase
DTI	Dauertropfinfusion
EF	Eliminationsfraktion
GE	Gesamteiweiß
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GIT	Gastrointestinaltrakt
HCl	Wasserstoffchlorid
Hkt	Hämatokrit
HMV	Harnminutenvolumen
i.v.	Intra venös
HWZ	Halbwertszeit
MCT	Monocarboxylat- Transporter
mM	mmol/l
Nabic	Natriumhydrogenkarbonat
NaCl	Natriumchlorid

I EINLEITUNG

Trotz Jahrzehnten der Forschung auf dem Gebiet der neonatalen Kälberdiarrhoe gilt diese Erkrankung weltweit als eine der häufigsten und verlustreichsten Erkrankung junger Kälber. Als Folge des Durchfalls gehen einem Kalb Flüssigkeit, Elektrolyte und Puffersubstanzen verloren. Dadurch kommt es neben Dehydratation häufig zu ausgeprägter metabolischer Azidose. In den letzten Jahrzehnten ging man davon aus, dass diese Azidosen durch enterale Bikarbonatverluste und Anreicherung von L-Laktat infolge anaerober Glykolyse durch Verminderung der Gewebepfusion entstehen. Erst seit wenigen Jahren gibt es Untersuchungen zur Bedeutung des D-Laktats bei azidotischen, an Durchfall erkrankten Kälbern. Diese Patienten fallen vor allem durch deutliche Störung des Allgemeinbefindens, zentrale Dämpfung und Verzögerung des Ansprechens auf eingeleitete Therapiemaßnahmen auf. Da Säugetieren eine spezifische D-Laktat-Dehydrogenase zum Abbau des D-Laktats fehlt, wird D-Laktat wesentlich langsamer verstoffwechselt als L-Laktat. Zur Kinetik und Elimination von D-Laktat bei Wiederkäuern wurden schon mehrere Untersuchungen durchgeführt, allerdings an klinisch gesunden Tieren. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zu klären, wie die Eliminierung von D-Laktat bei an Neugeborenenendurchfall erkrankten Kälbern mit bestehender D-Laktatazidose verläuft. Dabei sollte auch versucht werden, einen Beitrag zur Beantwortung der Frage zu liefern, warum die D-Laktatkonzentration im Blut nach erfolgter Azidosekorrektur sinkt, obwohl der Durchfall anhält.

II LITERATURÜBERSICHT

1 Laktatstoffwechsel beim Säugetier

1.1 Biochemie

Milchsäure (2-Hydroxypropansäure) wurde 1780 von SCHEELE aus saurer Milch isoliert. Sie stellt die einfachste Hydroxycarbonsäure dar. Laktat, das Salz der Milchsäure, kann aufgrund seines Chiralitätszentrums am C2 Atom in zwei enantiomeren Formen auftreten. In der Fischerprojektion steht die Hydroxygruppe des C2 Atoms bei der D-Form rechts, in der L-Form hingegen links (siehe Abbildung 1). Chemisch und physikalisch unterscheiden sich die beiden Formen nur in der Drehrichtung linear polarisierten Lichts. D (-) Laktat dreht linear polarisiertes Licht nach links, L (+) Laktat nach rechts (BEYER u. WALTER 1998).

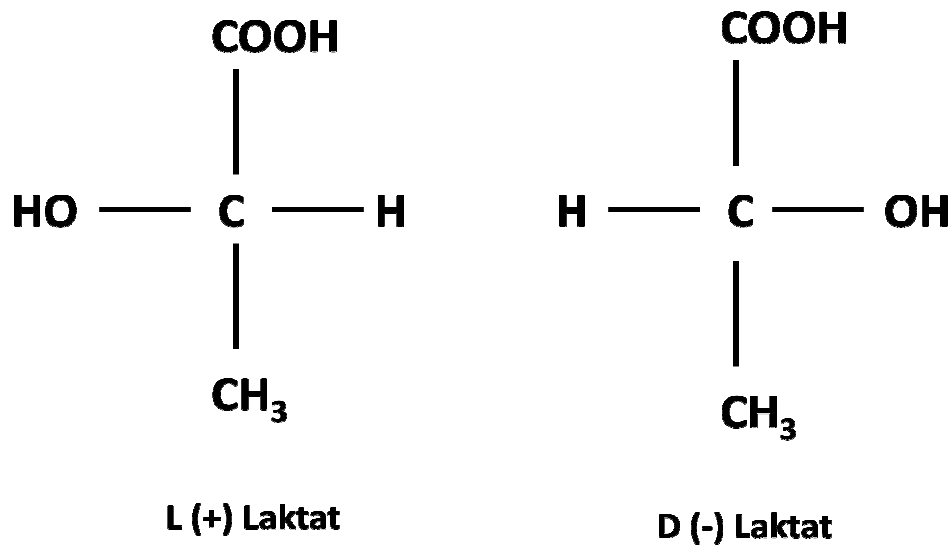


Abbildung 1: Strukturformeln der beiden Laktat- Isomere

1.2 L-Laktatstoffwechsel

L-Laktat wird in Muskelzellen der Säugetiere durch anaerobe Glykolyse gebildet. Dabei wird das im Muskel gespeicherte Glykogen über Glucose-6-Phosphat zu Pyruvat abgebaut. Unter physiologischen Bedingungen kann Pyruvat entweder in

den Zitratzyklus eingeschleust werden oder in Leber und Niere über die Gluconeogenese metabolisiert werden. Beide Stoffwechselwege sind sauerstoffabhängig. Unter anaeroben Bedingungen wird Pyruvat durch die L-Laktatdehydrogenase und durch die Oxidation von NADH/H⁺ zu NAD⁺ zu L-Laktat reduziert (COHEN u. KASSIRER 1982; BERG et al. 2003).

Eine Erhöhung der L-Laktat-Konzentration ist vor allem bei jüngeren Kälbern eine Ursache für Azidose bei Durchfall. Die vermehrten Flüssigkeitsverluste über den Durchfallkot führen zu Hypovolämie und Hypoxie in der Körperperipherie. Durch die Verminderung der Gewebepерfusion kommt es zu anaerober Glykolyse mit Anhäufung von L-Laktat (bei gleichzeitiger Verminderung der Utilisation von L-Laktat in der Leber) (NAYLOR 1987).

1.3 D-Laktatstoffwechsel

Bei Säugetieren wird D-Laktat unter physiologischen Bedingungen nur in geringem Umfang gebildet. Über das Glyoxalasesystem kann D-Laktat aus Methylglyoxal gebildet werden. Methylglyoxal wird in geringen Mengen im Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsel gebildet. Aufgrund seiner reaktiven und toxischen Natur muss es wieder aus dem Körper eliminiert werden (KALAPSOS 1999). Über S-D-Laktoglutathion wird es mit Hilfe der beiden Enzyme Glyoxalase I und Glyoxalase II zu D-Laktat umgewandelt. Diese Reaktion findet im Zytosol von Zellen und vor allem in Mitochondrien statt (THORNALLEY 1990). Weiterhin kann D-Laktat auch in den fermentativen Organen des Gastrointestinaltrakts (Pansen, Blinddarm und Kolon) durch grampositive Bakterien, vor allem Laktobazillen und Bifidobakterien, gebildet werden. Physiologischerweise wird es anschließend durch andere Bakterien zu Acetat oder anderen kurzkettigen Fettsäuren umgewandelt. Die organischen Säuren im Verdauungstrakt werden vor allem für die Energiebereitstellung des oxidativen Stoffwechsels und für Ionenpumpen der Mukosazellen im Kolon genutzt (HALPERIN u. KAMEL 1996).

Lange Zeit ging man davon aus, dass Säugetieren eine spezifische D-Laktatdehydrogenase fehlt und D-Laktat daher nicht metabolisiert werden kann. Erst 1965 entdeckte TUBBS, dass der Abbau von D-Laktat zu Pyruvat beim

Säugetier durch die D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase erfolgen kann. Die Umsatzrate beträgt jedoch nur ein Fünftel der Rate von L-Laktat (OH et al. 1985). Die Aktivität der D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase ist in vitro bei niedrigen pH-Werten vermindert (TUBBS 1965). Daher ist es möglich, dass der Metabolismus von D-Laktat bei Durchfallkälbern mit Azidose eingeschränkt ist und es zu einer stärkeren Anhäufung von D-Laktat kommt. Eine mutmaßliche D-LDH wurde 2002 von FLICK u. KONIECZNY bei Mensch und Maus nachgewiesen. In beiden Spezies konnte cDNS isoliert werden, die für homologe Proteine kodiert, wie man sie bei der D-LDH niederer Organismen findet.

Nach STANGASSINGER (1977) können Wiederkäuer D-Laktat effizient metabolisieren, wenn auch deutlich langsamer als L-Laktat. Durch Infusionsversuche erforschten GIESECKE u. STANGASSINGER (1978) die Kinetik der Elimination des D-Isomers aus dem Blut. Dabei zeigte sich, dass die Eliminierungsgeschwindigkeit stark von der Höhe des D-Laktat-Blutspiegels abhängig ist. Bei niedrigeren D-Laktatkonzentrationen läuft die Elimination schneller ab, wohingegen die Halbwertszeit von D-Laktat mit zunehmendem Blutspiegel stark ansteigt. Ziegen können (bei gleicher Konzentration) D-Laktat wesentlich rascher eliminieren als Schafe und Rinder. Dies zeigte sich aber erst bei höheren D-Laktatkonzentrationen: bei 10 mmol/l brauchen Rinder 35 % mehr Zeit, um D-Laktat zu beseitigen. Dieser tierartliche Unterschied der Elimination tritt bei L-Laktat nicht auf, daher gehen die Autoren davon aus, dass es quantitative Unterschiede in der renalen Exkretion und im intermediären Stoffwechsel beider Isomere gibt.

Beide Laktat-Isomere können über die Nieren ausgeschieden werden. Für beide Isomere gibt es eine bestimmte Schwellenkonzentration im Blut, wobei die Nierenschwelle für L-Laktat (und damit die Reabsorption im Tubulus) deutlich höher ist (L-Laktat 8-10 mmol/l beim Schaf; D-Laktat 4,25 mmol/l bei Schaf und Rind). L-Laktat wird in deutlich geringerem Umfang renal ausgeschieden, was zum einen an der höheren Nierenschwelle liegt, zum anderen aber auch an der rascheren Metabolisierung. Die Nierenschwelle für D-Laktat weist deutliche Speziesunterschiede auf. So liegt sie bei Ziegen bei einer D-Laktatkonzentration von 1,9 mmol/l, bei Schaf und Rind dagegen bei 4,3 mmol/l (STANGASSINGER u. GIESECKE 1978). OH et al. (1985) gehen davon aus, dass beide Isomere in der renalen Absorption miteinander interferieren, wobei D-Laktat in wesentlich

geringerem Umfang reabsorbiert wird als L-Laktat. Beide Isomere benutzen vermutlich den gleichen Na-Cotransporter, was zur gegenseitigen Beeinträchtigung der Reabsorption beiträgt. Die renale Reabsorption von Laktat wird durch Anstieg der Harnflussrate reduziert. Dagegen wird durch Verminderung der Perfusion der Nieren, z.B. durch Dehydratation, die Reabsorption von D-Laktat erhöht, wodurch die D-Laktatkonzentration im Blut ansteigt (DIES 1980).

GIESECKE u. STANGASSINGER (1979) gehen davon aus, dass für die Elimination von D-Laktat auch biochemische Transformationsprozesse eine bedeutende Rolle spielen. Bei ihren Infusionsversuchen verwendeten sie deshalb ^{14}C markierte DL-Milchsäurelösungen. Im Blut von Ziegen wurde die Rate der Gluconeogenese über die ^{14}C -Aktivität anhand der Plasmaglukose gemessen, die Oxidationsrate wurde anhand $^{14}\text{CO}_2$ in der Ausatemungsluft bestimmt. Es zeigte sich, dass die Oxidation von D-Laktat erst nach Erreichen eines bestimmten Blutspiegels (2,7 - 3,8 mmol/l) mit maximaler Geschwindigkeit erfolgt, dafür aber mit einem relativen Anteil von 45 % einen wichtigen Eliminationsprozess darstellt. Allerdings nimmt die Oxidationsrate bei höherer D-Laktatbelastung (ab 4,2 mmol/l im Blut) ab. Zusätzlich stellt die Transformation in Glukose einen wichtigen Prozess für die Elimination von D-Laktat dar. Nach ihren Messungen fließen 14% des Kohlenstoffs aus D-Laktat in die Gluconeogenese.

Nach neueren Studien kann auch Thiaminmangel den D-Laktat-Metabolismus beeinflussen. Das bei der Umwandlung von D-Laktat durch die D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase gebildete Pyruvat muss weiter verstoffwechselt werden. Dies erfolgt durch die Pyruvat-Dehydrogenase, welche ein Thiaminpyrophosphat-abhängiges Enzym ist. Bei Thiaminmangel kommt es zu Verminderung der Enzymaktivität, wodurch der Abbau von D-Laktat noch langsamer erfolgen könnte als bei Tieren mit ausgeglichenem Thiaminhaushalt (ROGGENHOFER 2004).

Der Transport von D-Laktat in und aus zahlreichen Geweben erfolgt mittels Protonen-abhängiger Monocarboxylat-Transporter (MCT- 1 bis 8), welche von den meisten Geweben exprimiert werden (ENERSON u. DREWES 2003). Die Aufnahme von D-Laktat im Dünndarm und Kolon erfolgt durch MCT-1 (DING u.

XU 2003; PRESTON u. NOLLER 1973). Nach TAMAI et al. (1995) hat dieser eine zweifach höhere Affinität für L-Laktat als für D-Laktat, wobei sich die Isomere bei der Aufnahme gegenseitig hemmen. DING u. XU (2003) führten an Schafen eine in-vivo Studie zur Resorption von D-Laktat im Dünndarm durch. In dieser Studie konnten keine Unterschiede in der Resorptionsrate von D- und L-Laktat bei einem pH von 5,3 im Dünndarm von Schafen festgestellt werden. Weiterhin stellten die Autoren fest, dass die Resorptionsrate zum einen durch die Laktatkonzentration sowie durch den pH-Wert beeinflusst wird. Mit steigender D-Laktatkonzentration sinkt die Resorptionsrate (%/min) leicht ab (bei 6,25 mM beträgt die Resorptionsrate ungefähr 1,55 %/min, bei 12,5 mM beträgt sie noch 1,4 %/min, bei 25 mM 1,3 %/min). Dies spricht auch dafür, dass die Resorption von den Laktatisomeren nicht durch Diffusion erfolgen kann, sondern durch Natrium- und/oder H^+ -abhängige MCT. Mit steigendem pH-Wert sinkt die Resorptionsrate stark ab. So beträgt sie bei pH 4,3 2,4 %/min, bei pH 6,3 jedoch nur noch 0,4 %/min.

2 D-Laktatazidose beim Kalb

2.1 Pansentrinken

Bei jungen Kälbern kann es zu akuter Pansenazidose infolge von Pansentrinken kommen. Das Pansentrinken tritt meist als Folge einer Dysfunktion der Schlundrinne und bei Zwangstränkung mittels Sonde oder Drencher auf (DIRR u. DIRKSEN 1989; DIRKSEN u. BAUR 1991; RADEMACHER et al. 2003). Die Steuerung der Schlundrinne erfolgt reflektorisch. Eine Dysfunktion des Schlundrinnenreflexes kann im Zusammenhang mit verschiedenen Primärerkrankungen auftreten. Dies kann neben Neugeborenenenddurchfall, Nabel- oder Lungenentzündung jede Erkrankung sein, die das Allgemeinbefinden des Kalbes stört und somit die für den Schlundrinnenschluss nötigen Reflexabläufe beeinträchtigt. Auch Inappetenz oder eine angeborene Anomalie der Schlundrinne können dazu führen, dass die Schlundrinne unvollständig schließt, mit der Folge, dass ein Teil oder das gesamte Volumen der aufgenommenen Milch in den Hauben-Pansenraum gelangt. Die in den Tränken enthaltenen Kohlenhydrate werden durch die dort vorhandenen Bakterien zu flüchtigen Fettsäuren (Essig-,

Propion- und Buttersäure) und Milchsäure (beide Isomere) vergoren (DIRR u. DIRKSEN 1989).

Die Säurebildung führt zu einem Abfall des pH im Pansen. Ab einem Pansen-pH-Wert von unter 6,0 spricht man beim Kalb von einer Pansenazidose. Gelangt wiederholt vergärbare Substrat in den Pansen, kann es zu weiteren Schäden wie Ruminitis oder einer Verhornungsstörung des Pansenepithels (parakeratotischer Hyperkeratose) kommen (DIRR u. DIRKSEN 1989; HÄNICHEN et al. 1992; RADEMACHER et al. 2003). Die Resorption der gebildeten Säuren kann metabolische Azidose auslösen (GENTILE et al. 1998).

GENTILE et al. (1998) konnten bei betroffenen Kälbern neben metabolischer Azidose eine Erhöhung der Anionenlücke nachweisen. Da die Autoren keine Korrelation zwischen der Anionenlücke und der Blut-L-Laktatkonzentration feststellen konnten, machten sie D-Laktat für die Erhöhung der Anionenlücke verantwortlich.

GRUDE untersuchte 2003 die Konzentration von L- und D-Laktat in Pansensaft, Blut und Harn von Kälbern. Dabei zeigte sich, dass trotz Erhöhung der D- und L-Laktatkonzentrationen im Pansensaft die D- und L-Laktatkonzentrationen im Blut gegenüber einer Kontrollgruppe (ohne Pansenazidose) nicht erhöht waren. Die Autorin geht daher davon aus, dass es trotz Pansenazidose nicht zwangsweise zu einer Laktatazidose kommen muss. Allerdings konnte bei Kälbern, die unter Neugeborenenenddurchfall litten, unabhängig von pH-Wert und D-Laktatgehalt des Pansensaftes erhöhte D-Laktat-Konzentrationen im Blut nachgewiesen werden. Die Autorin führte die Hyper-D-Laktatämie auf eine Erniedrigung der Pufferkapazität durch den hohen enteralen Bikarbonatverlust zurück. Dagegen konnten GENTILE et al. (2004) nachweisen, dass eine Pansenazidose zu einer systemischen D-Laktat-Azidose führen kann. Es wurde bei Kälbern durch experimentelle Zwangstränkung (3 mal täglich 1 Liter Milch) Pansenazidose hervorgerufen. Alle Kälber entwickelten eine Hyper-D-Laktatämie (6,75-11,1 mmol/l) und bis auf ein Kalb eine systemische Azidose. Weitere Symptome bei den Kälbern waren Dehydratation, Depression, Beeinträchtigung von Sauglust oder Saugreflex.

Das Krankheitsbild bei jungen Kälbern mit Pansenazidose infolge Pansentrinken umfasst Störung des Allgemeinbefindens (abhängig von Dauer und Schwere der Erkrankung), der Saugreflex ist häufig schwach und unkoordiniert. Die Tränkeaufnahme ist oft wechselhaft, wobei die Verminderung der Sauglust

wiederum zum Pansentrinken führen kann. Das Haarkleid der Patienten ist stumpf und struppig, zum Teil besteht flächenhafter Haarausfall. Bei Kälbern mit Retikuloruminits weisen Aufkrümmung des Rückens und Zähneknirschen auf die Schmerzhaftigkeit des Zustandes hin. Mit zunehmender Krankheitsdauer kommt es zu Abmagern und Kümern, da die Nährstoffe einer effektiven Verwertung im Darm entzogen werden (RADEMACHER et al. 2003).

2.2 Neugeborenendurchfall

Der Neugeborenendurchfall des Kalbes ist eine der wichtigsten Faktorenkrankheiten des Rindes. Dabei sind neben infektiösen Faktoren (Rota- und Coronaviren, Kryptosporidien oder enterotoxische *E.coli*-Stämme) auch nichtinfektiöse Faktoren, welche die Abwehrkraft des Kalbes beeinträchtigen oder den Keimdruck erhöhen, beteiligt (DOLL 2006). Als Folge des Durchfalls verliert das Kalb Flüssigkeit, Elektrolyte und Puffersubstanzen, wodurch es zu Dehydratation und metabolischer Azidose kommen kann. Die Azidose kann durch Bikarbonatverluste über den Kot, durch Verminderung der Ausscheidung von H^+ -Ionen über die Nieren (durch Dehydratation) oder Anhäufung organischer Säuren entstehen (KASKE 1994; LORENZ 2009). Insbesondere L-Laktat wurde für die hohe Anionenlücke bei Kälbern mit Durchfall verantwortlich gemacht. Laut NAYLOR (1987) tritt bei Durchfallkälbern eine L-Laktatazidose vor allem in der ersten Lebenswoche auf. Zusätzlich ist der Grad der Laktatazidose mit dem Grad der Dehydratation korreliert. Der Autor macht die Tatsache, dass Dehydratation bei jungen Kälbern besonders rasch eintritt, für die Entstehung der L-Laktatazidose verantwortlich, da es dadurch zu Störung der Gewebepfusion und damit zum Umschalten auf anaerobe Glykolyse mit Bildung von L-Laktat kommt. Dagegen konnte GROVE-WHITE (1996) keine Verbindung zwischen der L-Laktat-Konzentration und dem Grad der Azidose feststellen. In dieser Studie war bei 45 % der Kälber die Anionenlücke signifikant erhöht, allerdings hatte die Einbeziehung von L-Laktat in die Berechnung der Anionenlücke einen geringen Effekt auf die Verteilung. Daher ging der Autor davon aus, dass eine exogene Säureproduktion hauptsächlich zur Azidose bei Neugeborenendurchfall beiträgt. Er vermutete, dass die Säurebildung im Dickdarm durch Fermentation von ungenügend verdauten Nahrungsbestandteilen bei diesen Kälbern einen Einfluss

auf die Entwicklung einer metabolischen Azidose haben könnte.

KASARI u. NAYLOR beschrieben 1986 ein Syndrom mit metabolischer Azidose bei Kälbern ohne Durchfall und ohne Dehydratation. Das Verhalten der Kälber war komatös oder depressiv mit Schwäche und/oder Ataxie. Außerdem fiel bei einem Teil der Kälber der Lidreflex aus oder war verzögert. Alle Kälber hatten einen schwachen Saugreflex. Die Anionenlücke war erhöht, wofür organische oder anorganische Säuren von den Autoren verantwortlich gemacht wurden, die aber nicht näher bestimmt werden konnten. Die L-Laktat-, Acetat- und Acetacetatkonzentration im Blut waren im jeweiligen Referenzbereich.

D-Laktat als Ursache für die Erhöhung der Anionenlücke wurde zuerst von SCHELCHER et al. (1998) beschrieben. Die Autoren fanden heraus, dass metabolische Azidose bei Kälbern mit keinem oder nur geringgradigem Durchfall ohne Dehydratation durch Hyper-D-Laktatämie verursacht wird. Diese entsteht ihnen zufolge durch Überproduktion von D-Laktat durch Bakterien im Darm. DOLL konnte 1992 eine massive Ausscheidung von D-Laktat im Kot durchfallkranker Kälber im Vergleich zu gesunden Kälbern nachweisen.

Auch nach OMOLE et al. (2001) tragen beide Laktat-Isomere zur metabolischen Azidose bei, jedoch führt besonders D-Laktat ihrer Meinung nach zur Azidose mit Erhöhung der Anionenlücke. L-Laktat hatte in ihren Studien nur einen geringen Anteil an der Azidose. Die Autoren nahmen an, dass durch die infektiös bedingte Zottenatrophie mit nachfolgender Maldigestion und Malabsorption die in der Milch enthaltene Laktose oder andere Substrate unverdaut in das Kolon gelangen können und dort von Bakterien fermentiert werden. Dabei werden auch beide Laktat-Isomere gebildet. Da D-Laktat aber nur langsam metabolisiert wird, kann es zu einer Akkumulation des D-Isomers im Blut kommen und dies zur Azidose beitragen. EWASCHUK et al. stellten 2003 in ihrer Untersuchung eine signifikante Korrelation der Anionenlücke mit D- sowie DL-Laktat, jedoch nicht mit der Serum-L-Laktatkonzentration fest. Sie halten deshalb die Anionenlücke für einen Indikator der vorliegenden Azidoseart. In weiteren Studien wurde die D-Laktatkonzentration in Blut, Pansensaft, Harn und Kot von gesunden und an Durchfall erkrankten Kälbern untersucht (EWASCHUK et al. 2004). Hier zeigte sich, dass bei Durchfall die D-Laktatkonzentration in allen Proben signifikant erhöht war, wobei die D-Laktatkonzentration bei der Mehrzahl der Durchfallkälber im Kot höher war als im Pansensaft. Es bestand eine Korrelation zwischen den D-Laktatkonzentrationen im Kot und im Serum; die Konzentration

von D-Laktat im Pansensaft und diejenige im Serum war dagegen nicht korreliert. Dies spricht ebenfalls dafür, dass die Fermentation unverdauter Substrate im Kolon mit nachfolgender Absorption mehr zur systemischen Azidose beiträgt als die ruminale Bildung von D-Laktat.

LORENZ (2004a) fand zwar bei Durchfallkälbern mit Pansenazidose signifikant höhere D-Laktatkonzentrationen im Blut als bei solchen ohne Pansenazidose, geht aber davon aus, dass die Pansenazidose eine Folgeerscheinung darstellt. Die D-Laktatazidose, hervorgerufen durch Durchfall, führt zu Schwäche und dadurch zum Ausfall des Schlundrinnenreflexes. Dies führt zu Pansentrinken und Pansenazidose.

In verschiedenen Studien zeigte sich auch, dass die Symptome, die bisher der metabolischen Azidose zugeschrieben wurden, größtenteils durch D-Laktat verursacht werden (LORENZ 2004b; LORENZ et al. 2005; ABEYSEKARA et al. 2007). Hyper-D-Laktatämie (>6 mmol/l) beeinflusst sowohl das Verhalten als auch die Körperhaltung in wesentlich höherem Maß als die Azidose. Das Verhalten variiert je nach D-Laktatkonzentration von Mattigkeit bis hin zu Koma. Manche Kälber verharren in unphysiologischen Stellungen, stehen regungslos mit gesenktem Kopf oder wackelig und unsicher, es kann aber auch zum Festliegen in Brust- oder Seitenlage kommen. Verzögerung oder Ausfall des Lidreflexes wird fast ausschließlich durch Erhöhung der D-Laktatkonzentration verursacht, wohingegen der Saugreflex mehr durch niedrigen Basenexzess und Dehydratation beeinflusst wird. D-Laktat führt also nicht grundsätzlich zu einem Ausfall des Saugreflexes, bedingt durch die Schwäche kann der Saugreflex aber weniger ausgeprägt sein (LORENZ 2004b). Dass diese Symptome durch die Hyper-D-Laktatämie ausgelöst werden, konnte in einem Versuch bewiesen werden. Nach i.v.-Verabreichung von 25 g Natrium-D-Laktat (223,07 mmol) in 100 ml Aqua ad inj. oder desselben Volumens 0,9 %iger Kochsalzlösung konnten diejenigen Kälber, denen D-Laktat injiziert worden war, anhand der klinischen Symptome eindeutig bestimmt werden (LORENZ et al. 2005). Dabei wirkt D-Laktat vermutlich selbst als neurotoxisches Agens. In einer Studie von ABEYSEKARA et al. (2007) wurde acht Kälbern entweder isomolare DL- Milchsäurelösung, L- Milchsäure, HCl oder NaCl infundiert. Dadurch sollte geklärt werden, ob D-Laktat oder die Ansäuerung des Nervengewebes für die neurologischen Ausfälle verantwortlich ist. Dabei zeigte sich, dass die D-Laktatkonzentrationen im Serum

und im Liquor stark mit allen neurologischen Verhaltensweisen (Stehvermögen, Blinzel- und Lidreflex) außer dem Saugreflex korreliert waren. Die Ausprägung des Saugreflexes war auch in diesem Versuch stärker mit dem Bikarbonatgehalt im Liquor, dem Basenexzess und dem pH-Wert korreliert. Durch die HCl-Infusion wurde zwar eine schwere metabolische Azidose ausgelöst, jedoch mit nur milder Beeinträchtigung der neurologischen Funktionen. Dagegen führte D-Laktat zwar zu weniger starker Azidose, dafür aber zu schweren neurologischen Ausfällen. Auch in einer Untersuchung von GENTILE et al. (2008) konnte gezeigt werden, dass durch Infusion von HCl (400 mM HCl in 4 Liter 0,9 % NaCl) systemische metabolische Azidose bei Kälbern ausgelöst werden kann (BE zwischen -17 bis 33,1 mmol/l). Allerdings konnte bei keinem der Kälber trotz der deutlichen Azidose eine Beeinträchtigung von Verhalten oder Auffälligkeiten in der Körperhaltung beobachtet werden. Der Saugreflex war nicht beeinträchtigt. Auch bei der neurologischen Untersuchung konnten keine Beeinträchtigungen (insbesondere des Lidreflexes und Saugreflexes) festgestellt werden. Auch diese Untersuchung zeigt, dass die Auswirkungen auf das Stehvermögen und Verhalten hauptsächlich durch D-Laktat ausgelöst werden.

ZELLO et al. berechneten 2009 eine Schwellenkonzentration für D-Laktat im Durchfallkot. Diese liegt bei Kälbern bei 8,82 mmol/l, bei Lämmern bei 10,2 mmol/l. Die Autoren gehen davon aus, dass D-Laktat erst ab einem Gehalt von ungefähr 10 mmol/l im Darmlumen von MCT aufgenommen und in Mukosazellen transportiert wird. Ob D-Laktat im gesamten Darmtrakt oder nur in umschriebenen Bereichen gebildet wird, konnte bisher noch nicht eindeutig geklärt werden. Es zeigte sich aber, dass zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall kein signifikanter Unterschied im D-Laktatgehalt der verschiedenen Anteile des Verdauungsapparates besteht. Im Labmagen, im aboralen Teil des Jejunums, im Blinddarm und im Kolon war der Anteil an grampositiven, langen Stäbchen (dies können zum Beispiel Laktobazillen sein) und der D- Laktatgehalt (> 3 mmol/l) erhöht (KÖNIG 2006).

In einer Studie an gesunden Kälbern konnte gezeigt werden, dass oral verabreichtes Malat in der Lage ist, die Produktion von D-Laktat im Darm zu vermindern (ABEYSEKARA 2009). Den Kälbern wurde über fünf Tage in unterschiedlichen Dosierungen Malat mit der Milchtränke verabreicht. Bei keinem der Kälber war zu Versuchsbeginn oder während des Versuchs die Serum-

D-Laktatkonzentrationen erhöht, jedoch hatten alle Kälber erhöhte D-Laktatkonzentrationen im Kot. Durch die Verabreichung von Malat konnte die Kot-D-Laktatkonzentration von ~ 36 mmol/l auf ~ 11 mmol/l reduziert werden, wobei die Verminderung der D-Laktatkonzentration abhängig von der Dosierung von Malat war. Allerdings müssen weitere Untersuchungen zeigen, ob die Verabreichung von Malat als Präbiotikum auch bei an Neugeborenendurchfall erkrankten Kälbern in der Lage ist, die D-Laktatkonzentration im Darm zu vermindern oder ob es sogar vorbeugend gegen die Entstehung einer D-Laktatazidose eingesetzt werden kann.

Im Gegensatz zu L-Laktatazidose verschlechtert D-Laktatazidose die Prognose nicht (LORENZ 2004a).

Es gibt bisher keine Untersuchungen bei an Neugeborenendurchfall erkrankten Kälbern mit D-Laktatazidose, in denen der Verlauf der D-Laktatkonzentration im Serum, sowie dessen Ausscheidung in Harn und Kot untersucht wird. Es ist bekannt, dass Kälber in der Lage sind, D-Laktat in einem gewissen Umfang zu metabolisieren (LORENZ et al. 2005). Warum es nach Ausgleich der metabolischen Azidose und der Flüssigkeitsverluste zu einem Absinken der D-Laktatkonzentrationen kommt ist noch nicht abschließend geklärt.

III MATERIAL UND METHODEN

1 Patientengut

In die Untersuchung einbezogen wurden zehn männliche Kälber im Alter von sieben bis 21 Tagen, die zwischen November 2009 und Januar 2011 in die Klinik für Wiederkäuer der LMU München eingeliefert wurden und entweder vorberichtlich oder zum Zeitpunkt der Einlieferung an Neugeborenenenddurchfall erkrankt waren. Es wurden nur männliche, mindestens sieben Tage alte Kälber in die Untersuchung eingeschlossen, da Kälber in ihrer ersten Lebenswoche niedrigere D-Laktatkonzentrationen aufweisen als ältere Kälber (TREFZ, 2011). Zudem mussten die Tiere ein Basendefizit aufweisen, das größer als 9 mmol/l war, Anzeichen einer Additionsazidose (Anionenlücke > 20 mEq/l), sowie Verzögerung oder Ausfall des Lidreflexes zeigen. Es wurden also deutlich azidotische Kälber mit Anzeichen einer D-Laktatazidose ausgewählt.

Ausschlusskriterien waren:

- Hyperkaliämie (Serum-Kaliumkonzentration > 8 mmol/l)
- Myodystrophie (Kreatinkinase (CK) > 2000 U/l und/oder Aspartat-Amino- Transferase (AST) > 400 U/l)
- Nabelentzündung.

2 Haltung und Fütterung

Die Kälber wurden in Einzelboxen mit Lattenrost auf Stroheinstreu gehalten. Sie wurden aus dem Nippleimer getränkt, wobei sie ein Gesamtmilchvolumen von ca. 12 % ihrer Körpermasse, verteilt auf drei Tränkezeiten, erhielten. Während der Durchfallerkrankung wurde ihnen zwischen den Milchmahlzeiten zusätzlich eine Elektrolytlösung angeboten. Sowohl das angebotene als auch das aufgenommene Tränkevolumen wurden für jedes Kalb in einem Tränkeplan notiert. Daneben standen jedem Kalb frisches Wasser aus dem Eimer, Salzleckstein, Kälberkorn und Heu zur freien Aufnahme zur Verfügung.

3 Körpermasse

Die Körpermasse der Kälber wurde bei Einlieferung mit Hilfe einer digitalen Viehwaage („iconix FX 1“, Fa. TEXAS TRADING) ermittelt. Die Genauigkeit dieser Waage liegt bei 0,1 Kilogramm. Bei drei Patienten erfolgte die Ermittlung der Körpermasse zusätzlich zum Ende der Untersuchung nach 24 Stunden. Bei den restlichen sieben Patienten wurde die Körpermasse nach 24 Stunden mithilfe der Formel

$$\text{KM (nach 24 h)} = [\text{KM (Eingangsuntersuchung)}] * [1 + \text{Dehydratationsgrad in Prozent}] \quad (1)$$

berechnet (GAUCHEL, 2012).

4 Behandlung

Allen Tieren wurde am Tag der Einlieferung ein nicht-steroidales Antiphlogistikum (Meloxicam, Metacam[®], Boehringer Ingelheim) intravenös und ein Vitamin E/Selen-Kombinationspräparat (Vitamin E Selen[®], CP Pharma, Burgdorf) subkutan verabreicht, sofern dies nicht schon vom Haustierarzt eingesetzt worden war. Ein Patient wurde aufgrund starker Untertemperatur und Anzeichen einer Sepsis zusätzlich antibiotisch behandelt (Cefquinom, Cobactan 2,5[®], Intervet GmbH Deutschland).

5 Flüssigkeits- und Elektrolyttherapie

Alle Probanden erhielten eine standardisierte Therapie. Die zum Ausgleich der Azidose benötigte Masse Natriumhydrogencarbonat wurde mittels der Formel
$$\text{Nabic (mg)} = \text{BE (mmol/l)} * \text{KM (kg)} * \text{Faktor (0,8 l/kg)} * 84 \text{ mg/mmol} \quad (2)$$
 berechnet und mit Wasser auf ein Volumen von 2 Liter aufgefüllt. Die Verabreichung der Infusionslösung erfolgte über einen Verweilkatheter in der Vena jugularis. Das Infusionsvolumen von 2 Litern wurde den Kälbern innerhalb von zwei Stunden verabreicht. Ziel dieser standardisierten Therapie war ein sicherer und möglichst rascher Ausgleich der Azidose.

Anschließend erhielten die Kälber eine Dauertropfinfusion, welche je nach Dehydratationsgrad des einzelnen Tieres und zum Ausgleich laufender Verluste von Flüssigkeit und Bikarbonat berechnet wurde. Als Anhaltspunkt für die

zusätzlich benötigte Bikarbonatmasse wurde nochmals von einem BD von 10 mmol/l ausgegangen und die Masse nach der oben genannten Formel (2) berechnet.

6 Untersuchungsplan und –durchführung

Bei Einlieferung in die Klinik wurden die Patienten zunächst gründlich klinisch untersucht. Im Anschluss an die Untersuchung erfolgte eine Blutprobenentnahme aus der Vena jugularis.

Harnabsatz erfolgte entweder spontan oder wurde durch vorsichtiges Reiben am Präputium provoziert. Das bei der Eingangsuntersuchung abgesetzte Harnvolumen wurde aufgefangen und für weitere Probenzwecke aufbewahrt. Harnabsatz wurde solange provoziert, bis die Harnblase palpatorisch „leer“ erschien. Ebenso wurde abgesetzter Kot (spontan oder provoziert) aufgefangen und aufbewahrt. Anschließend wurde den Tieren zur Verabreichung der Infusion ein Venenverweilkatheter (Fa. BRAUN, Melsungen) in die Vena jugularis gelegt. Nach Einleitung der Therapie wurden die Vorbereitungen für die Durchführung der Untersuchungen getroffen. Dazu wurde den Kälbern für die quantitative Harnsammlung der Nabel-Präputialbereich sorgfältig geschoren, gesäubert, getrocknet und die Haut mit Alkohol entfettet. Anschließend wurde mit PATTEX® an die Haut um Präputium und Nabel ein „Harnbeutel“ angebracht. Dieser „Harnbeutel“ wurde aus PVC-Folien (Materialstärke 0,16 mm, ALKOR®) und PVC-Folienkleber (Fa. PATTEX, Sekundenkleber Plastik) selbst hergestellt. Über ein Schlauchsystem aus „Heidelberger Verlängerungen“ (Fa. BRAUN, Melsungen) wurde der abgesetzte Harn mittels Vakuum in leere 10 Liter Infusionskanister abgesaugt. Das Vakuum wurde mittels Vakuumpumpe (SP 302 SL-V, Fa. SCHWARZER, Essen), welche an den Infusionskanister angeschlossen war, erzeugt.

Für die quantitative Kotsammlung diente eine eigens dafür konstruierte Vorrichtung. Aus einer Gummimanschette wurde eine ovale, der Analregion angepasste Maske angefertigt. Zur Sammlung der Fäzes dienten humanmedizinische Ausstreifbeutel zur Stomaversorgung (Fa. COLOPLAST GmbH). Diese wurden über eine „Basisplatte“ (Fa. COLOPLAST GmbH) an der

Maske befestigt (siehe Abbildung 2). Die Maske wurde über elastische Gurte, die am Tier mithilfe eines handelsüblichen Brustgeschirrs befestigt wurden, an der Analregion fixiert (siehe Abbildung 3).

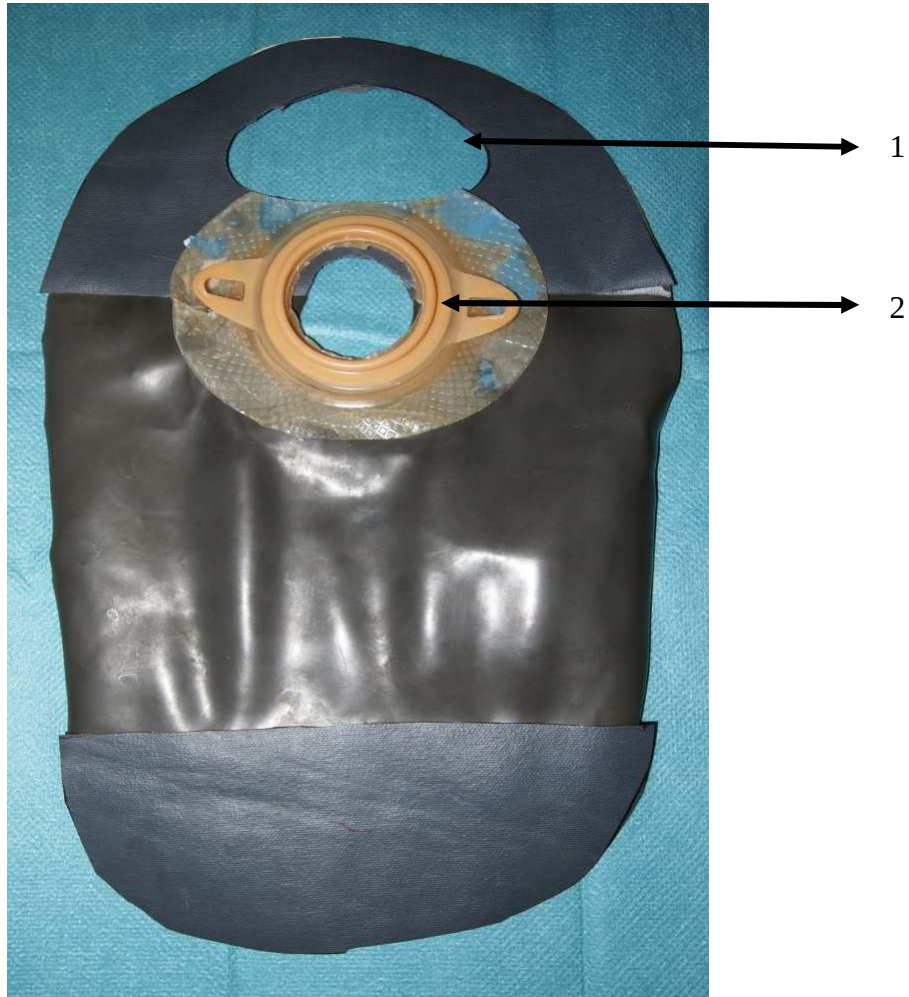


Abbildung 2: Maske der Kotsammelvorrichtung

1 = Ausschnitt für Schwanz

2 = Basisplatte zur Befestigung des Kotsammelbeutels



Abbildung 3: Befestigung der Kotsammelvorrichtung am Patienten

Der Untersuchungszeitraum betrug jeweils 24 Stunden. Die Entnahme von Blutproben, sowie der gesammelten Harn- und Kotproben erfolgte alle drei Stunden.

Die Blutproben wurden aus dem Venenverweilkatheter in der Vena jugularis entnommen. Dabei wurde jeweils die D- und L-Laktatkonzentration, die Kreatinin-, Harnstoff- und Albumin- sowie Gesamteiweißkonzentration bestimmt. Zusätzlich wurde aus Lithium-Heparinat-Blut mittels Blutgasanalyse das Basendefizit und Hämatokrit ermittelt.

Der zeitliche Verlauf der D-Laktatkonzentration wurde mittels einer linearen Regression der logarithmierten D-Laktatkonzentrationen bestimmt.

Zu den jeweiligen Zeitpunkten der Blutentnahmen wurde Harn provoziert bis die Harnblase palpatorisch „leer“ erschien und das Harnvolumen bestimmt. Im gesammelten Harn wurde die D-Laktat- und die Kreatininkonzentration, bestimmt und eine Dichtemessung mittels Refraktometer (Uricon-N, Fa. ATAGO, Vertrieb, Fa. EIKEMEYER) durchgeführt.

Die Kreatinin- und D-Laktat-Clearance als Maß für die Ausscheidungsleistung der Nieren wurde nach der Formel

$$Cl = (U \cdot V) / P \quad (3)$$

berechnet.

Dabei gilt

Cl = Clearance (ml/min)

U = Konzentration der Substanz im Harn

V = Harnzeitvolumen (ml/min)

P = Konzentration der Substanz im Serum

(GÄBEL u. FROMM 2005)

Die Eliminationsfraktion von D-Laktat als prozentualer Anteil des ausgeschiedenen am glomerulär filtrierten D-Laktat wurde mit der Formel:

$$EF\text{-D-Laktat (\%)} = (U_{DL} / P_{DL}) / (U_{Krea} / P_{Krea}) \cdot 100 \quad (4)$$

berechnet.

Dabei gilt

U_{DL} = D-Laktatkonzentration im Harn

P_{DL} = D-Laktatkonzentration im Plasma

U_{Krea} = Kreatininkonzentration im Harn

P_{Krea} = Kreatininkonzentration im Plasma

(OH et al. 1985)

Der ausgeschiedene Kot wurde spätestens alle drei Stunden in verschließbare Polyethylen-Dosen (Fa. ROTH GmbH+Co.) überführt. Zusätzlich wurde zu den Probenzeitpunkten nochmals Kotabsatz provoziert. Die Masse des abgesetzten Kotes wurde jeweils mittels elektronischer Waage (Fa. METTLER, TOLEDO PB 1501) ermittelt. Der pH-Wert in dem gesammelten und homogenisierten Kot wurde mittels elektronischem pH-Meter (pH- Digi 88, Fa. WTW, Weilheim) bestimmt. Anschließend wurde die Kotprobe mit wässriger 5 %iger Gentamicinlösung versetzt (20 mg/100 g Kot; GENTA 5%®, Albrecht GmbH, Aulendorf) und auf 4°C abgekühlt.

Im Anschluss an den Untersuchungszeitraum musste zur Bestimmung der D-Laktatkonzentration im Kot zunächst Kotwasser gewonnen werden. Dies erfolgte mittels Dialyseverfahren (DOLL 1991). Dazu wurden Dialyseschläuche aus Zellulosematerial (Dialysis tubing, Fa. SIGMA) zur Entfernung des als Feuchthaltemittels vorhandenen Glycerins drei Stunden in Aqua dest. gewässert und anschließend zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks mit jeweils 1 ml 10 %iger Dextran- Lösung (MG 77800, Fa. SIGMA) gefüllt. Die durch Verknoten des Schlauches entstandenen 2-3 cm langen Beutel wurden unter den durchmischten, bei 4 °C gelagerten 3-Stunden Kot gemischt. Die Dialysezeit betrug jeweils 24 Stunden. Im Anschluss daran wurden die Beutelchen mit Hilfe einer Pinzette entnommen und das Dialysat mittels einer dünnen Kanüle und einer Spritze abgesaugt und in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt.

Die Ermittlung des Trockensubstanzanteils des Kotes erfolgte durch Trocknung eines Teils (15 g) der homogenisierten 3-Stunden-Proben im Heißlufttrockenschrank (Fa. MELAG) bei 96 °C bis zur Gewichtskonstanz. Als „Wassergehalt“ der Fäzes wurde die Differenz zwischen der Masse der gesammelten Fäzes und der Trockenmasse bezeichnet.

Zur Bestimmung des Medians und des Mittelwertes des Kot-pH der Probanden wurde zunächst für jedes Kalb aus den pH-Werten der einzelnen Probenzeitpunkte die Wasserstoffionen-Aktivität mithilfe der Formel $a_{H^+} = 10^{-pH}$ (5)

berechnet. Aus der Wasserstoffionen-Aktivität wurde dann der Median und der Mittelwert für die einzelnen Probenzeitpunkte ermittelt und dieser dann mithilfe der Formel $pH = \log_{10}(a_{H^+})$ (6)

wieder in den pH-Wert umgerechnet.

7 Probenbearbeitung

Die Bearbeitung und Untersuchung der Blutproben, sowie die Bestimmung der D-Laktat- und Kreatininkonzentration im Harn und im Kotwasser erfolgte im Labor der Klinik für Wiederkäuer.

Die D-Laktat-Bestimmung erfolgte sowohl im Blut als auch in Harn und Kotwasser mittels einer enzymatischen Methode (LORENZ et al. 2003). Sie beruht auf der Oxidation von D-Laktat zu Pyruvat durch die D-Laktatdehydrogenase unter gleichzeitiger Umwandlung von NAD^+ zu NADH. Das bei dieser Reaktion gebildete NADH kann photometrisch bei 340 nm aufgrund seiner Absorption bestimmt werden.

Aus Tabelle 1 sind sämtliche Methoden und Geräte, die zur Bestimmung der jeweiligen Parameter eingesetzt wurden, zu ersehen.

Tabelle 1: Verwendete Methoden und Geräte bei der Untersuchung der Laborparameter

Parameter	Methode	Gerät
Basendefizit	Rechenparameter	Rapidlab ® 865 Blood Gas Analyzer, Fa. Bayer
Anionenlücke	Rechenparameter	
L-Laktat	Enzymatischer in vitro UV-Test mittels L- Laktat-dehydrogenase	Hitachi Automatic Analyzer 911, Fa. Roche
D-Laktat	Enzymatischer in vitro UV-Test (ohne Enteiweißung) mittels D- Laktat-dehydrogenase	
Harnstoff	kinetischer UV- Test (enzymatischer in vitro Test)	
Kreatinin	Jaffé-Methode, Rate-Blanked mit Kompensation (kinetischer in vitro Test)	
Gesamteiweiß	Biuret- Methode	
Albumin	Bromcresolgrün	
Hämatokrit	Zellzahlgerät Rechenparameter	PocH-100iV Diff, SYSMEX CORPORATION

Die Referenzbereiche der Laborparameter wurden weitgehend in Anlehnung an STÖBER u. GRÜNDER (1990) von der Klinik für Wiederkäuer übernommen.

8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms SPSS Statistics für Windows, Version 18.0 und Microsoft Office Excel 2007.

Die Korrelation kontinuierlicher Merkmale wurde nach Pearson berechnet. Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit zu anderen Untersuchungen wurden neben den Medianen Mittelwerte und Standardabweichungen (in Klammern) angegeben.

Zur graphischen Darstellung von Häufigkeitsverteilungen der Werte für den zeitlichen Verlauf wurden Boxplots (Box-/Whiskerdiagramme) eingesetzt. Die Box enthält 50 % der Werte (zwei Quartile) inklusive des Medians, die Länge der Box entspricht dem Interquartilbereich. Die „Whiskers“ (T-Balken) stellen „Extremwerte“ dar und vermitteln einen Eindruck, wie weit die restlichen 50 % der Werte (Extremwerte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilabstands) streuen. Extremwerte außerhalb dieses 1,5 Interquartilbereichs werden als milde Ausreißer in Form eines ° dargestellt, Werte außerhalb des dreifachen Interquartilabstandes werden als extreme Ausreißer bezeichnet und mit * abgebildet.

Als Signifikanzgrenze wurde $p = 0,05$ festgelegt.

IV ERGEBNISSE

1 Angaben zu den Patienten

Alle Kälber gehörten der Rasse Deutsches Fleckvieh an. Das durchschnittliche Alter der Probanden betrug 9,6 Tage, wobei das jüngste Kalb 7 Tage alt war, das älteste 15 Tage. Die mittlere Körpermasse betrug 44,3 kg, das leichteste Kalb wog 33 kg, das schwerste 51 kg.

Die Kälber waren im Mittel seit vier Tagen an Durchfall erkrankt, ein Kalb war bereits seit acht Tagen erkrankt, ein Kalb war erst seit einem Tag auffällig. Zwei Probanden waren bereits durch den Hoftierarzt mit Infusionen vorbehandelt.

2 Labordiagnostische Befunde im Verlauf

Nachfolgend wird der Verlauf der D-Laktatkonzentration im Blut, Harn und Kot, der Verlauf der Anionenlücke und des Basenexzesses, der Konzentrationen von Kreatinin, Harnstoff, Gesamteiweiß und Albumin im Serum sowie des Hämatokrits beschrieben.

2.1 D-Laktatkonzentration im Serum

Der Median der Serum-D-Laktatkonzentration der Probanden liegt bei Einlieferung bei 10,7 mmol/l (im Mittel bei $10,8 \pm 1,8$ mmol/l), wobei der höchste gemessene Wert 13,5 mmol/l beträgt, der niedrigste 8,8 mmol/l. Drei Stunden nach Untersuchungsbeginn steigt der Median der D-Laktatkonzentration nochmals an und beträgt 12 mmol/l ($11,6 \pm 1,9$ mmol/l), wobei der höchste Wert 13,6 mmol und der niedrigste 7,6 mmol/l ausmacht. Im weiteren Verlauf sinkt bei allen zehn Probanden die D-Laktatkonzentration ab, liegt jedoch nur bei fünf Kälbern nach 24 Stunden wieder im Referenzbereich ($\leq 3,96$ mmol/l) (LORENZ et al. 2003). Drei Kälber weisen immer noch eine deutlich erhöhte D-Laktatkonzentration auf (> 6 mmol/l). Der Verlauf der Serum-D-Laktatkonzentration ist Abbildung 4 zu entnehmen.

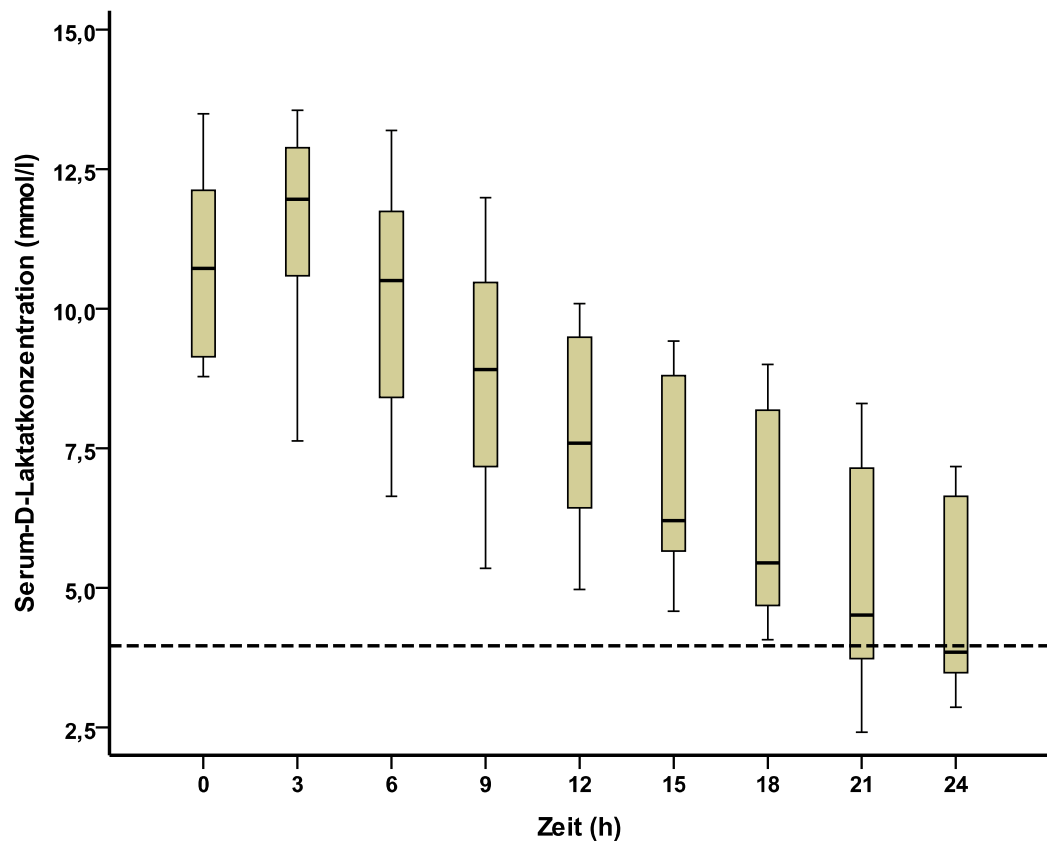


Abbildung 4: Verlauf der Serum-D-Laktatkonzentration (mmol/l) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h); die gestrichelte Linie markiert die Obergrenze des Referenzbereichs von D-Laktat im Serum (nach LORENZ et al. 2003)

In Abbildung 5 ist der Verlauf der logarithmierten Serum-D-Laktatkonzentrationen dargestellt. Dabei ergab sich ein linearer Abfall der D-Laktatkonzentration. In einer linearen Regression mit den logarithmierten D-Laktatkonzentrationen über die Probenzeitpunkte der Studie ergab sich ein R^2 von 0,969.

Dadurch konnte auch die Halbwertszeit von D-Laktat der zehn Kälber in dieser Untersuchung berechnet werden, diese lag durchschnittlich bei 18 Stunden. Jedoch gab es unter den einzelnen Kälbern große Schwankungen in der jeweiligen HWZ; so liegt der höchste Wert für die HWZ bei 27 Stunden, die niedrigste HWZ beträgt 12 Stunden.

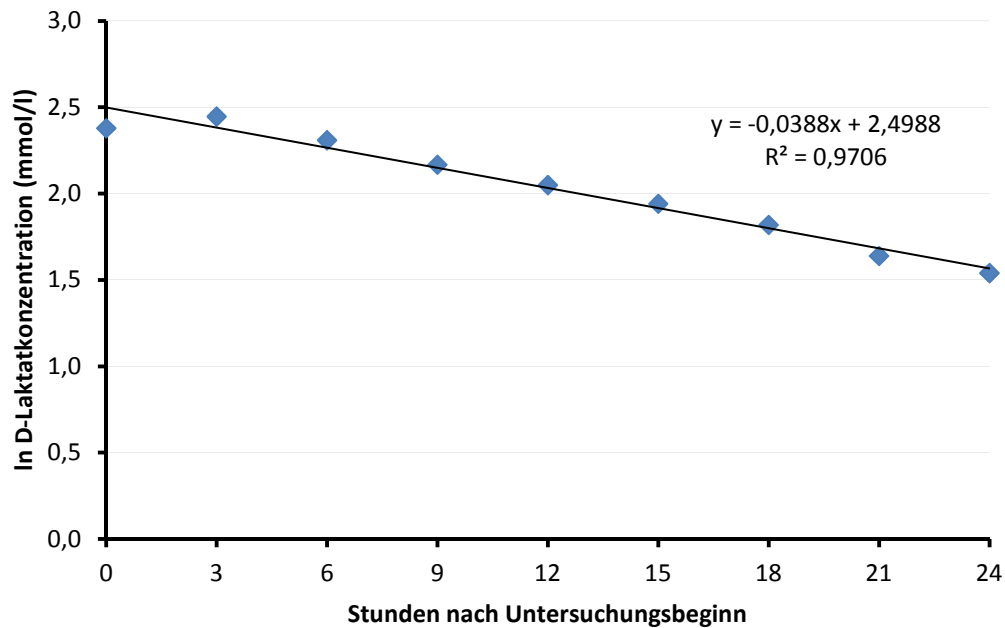


Abbildung 5: Verlauf der logarithmierten Serum-D-Laktatkonzentration (mmol/l) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn

Es besteht eine korrelative Beziehung zwischen der Ausgangs-D-Laktatkonzentration und der HWZ (siehe Abbildung 6), der Korrelationskoeffizient beträgt 0,72. Es konnte keine Beziehung zwischen dem Alter der Probanden, der Krankheitsdauer oder dem Dehydratationsgrad zu Untersuchungsbeginn festgestellt werden.

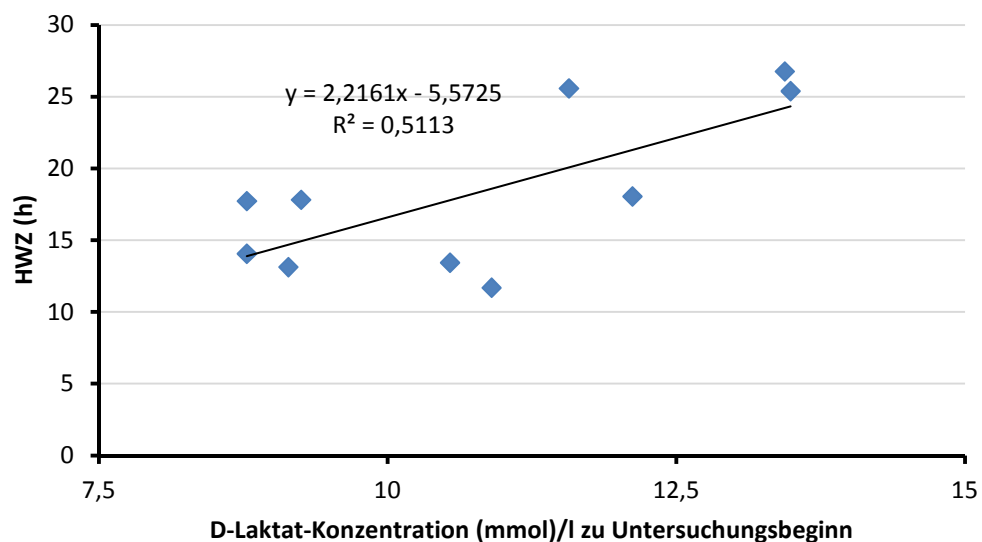


Abbildung 6: Abhängigkeit der HWZ (h) von der Ausgangs-D-Laktat-Konzentration (mmol/l)

2.2 D-Laktatausscheidung im Harn

Die Vorrichtung zur quantitative Harnsammlung wurde erst nach der Eingangsuntersuchung (Probenzeitpunkt 0) angebracht, die Sammlung erfolgte über 24 Stunden (Probenzeitpunkt 3 - 24).

In der bei der Eingangsuntersuchung (Probenzeitpunkt 0) gewonnenen Harnprobe konnte eine mediane D-Laktatkonzentration von 5 mmol/l ($15,7 \pm 22,1$ mmol/l) ermittelt werden.

Durch die quantitative Harnsammlung kann ab dem Probenzeitpunkt 3 die absolute Masse D-Laktat, die im Harn ausgeschieden wird, berechnet werden (siehe Abbildung 7). Zum Probenzeitpunkt 3 beträgt der Median der D-Laktatmasse im Harn 8,79 mmol/3 h (im Mittel $8,0 \pm 5,4$ mmol/3 h). Nach weiteren drei Stunden (Probenzeitpunkt 6) steigt der Median der D-Laktatmasse auf 19,16 mmol/3 h ($17,4 \pm 10,2$ mmol/3 h). Zu den weiteren Probenzeitpunkten bleibt die Harn-D-Laktatmasse relativ konstant, erst nach 21 Stunden sinkt der Median der D-Laktatmasse wieder leicht ab, auf 12,32 mmol/3 h ($14,1 \pm 9,6$ mmol/3 h). Nach weiteren drei Stunden ist die D-Laktatmasse im Harn auf 9,85 mmol/3 h ($11,3 \pm 9,5$ mmol/3 h) abgesunken.

Zu Untersuchungsbeginn besteht zwischen der D-Laktatkonzentration im Serum und im Harn eine korrelative Beziehung mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,8 ($p < 0,05$). Ebenso besteht eine korrelative Beziehung zwischen BE bei Untersuchungsbeginn und Harn-D-Laktatkonzentration mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,9 ($p < 0,01$).

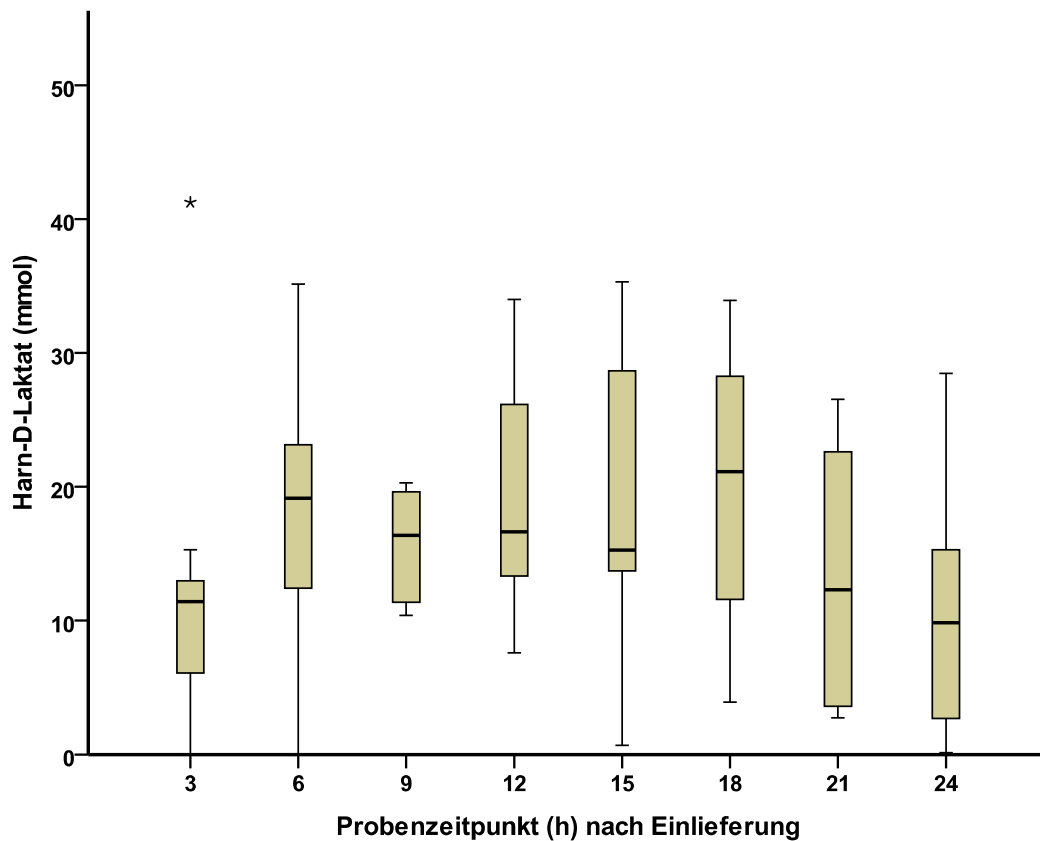


Abbildung 7: Verlauf der D-Laktat-Ausscheidung im Harn (mmol/3h) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn

2.3 D-Laktatausscheidung im Kotwasser

Nach der Eingangsuntersuchung wurde die Vorrichtung zur quantitativen Kotsammlung angebracht. In der im Rahmen der Eingangsuntersuchung entnommenen Kotprobe (Probenzeitpunkt 0) beträgt die mediane D-Laktatkonzentration im Kotwasser 14,7 mmol/l ($15,3 \pm 12,4$ mmol/l).

Zu den nachfolgenden Probenzeitpunkten konnte aufgrund der quantitativen Kotsammlung die absolute Masse D-Laktat (mmol) im Kotwasser bestimmt werden (siehe Abbildung 8). Zum Probenzeitpunkt 3 liegt der Median der D-Laktatmasse im Kotwasser bei 3,7 mmol/3 h ($9,1 \pm 12,7$ mmol/3 h). Im Verlauf steigt der Median der D-Laktatmasse im Kotwasser nach weiteren drei Stunden (Probenzeitpunkt 6) zunächst auf 4,8 mmol/3 h ($6,7 \pm 4,9$ mmol/3 h) an, neun Stunden nach Untersuchungsbeginn sinkt die D-Laktatmasse im Kotwasser auf 2,2 mmol/3 h ($3,3 \pm 3,5$ mmol/3 h). Im weiteren Verlauf sinkt der Median der D-

Laktatmasse im Kotwasser kontinuierlich ab, zum Ende der Untersuchung nach 24 Stunden liegt sie noch bei 0,8 mmol/3 h ($1,1 \pm 1,3$ mmol/3 h).

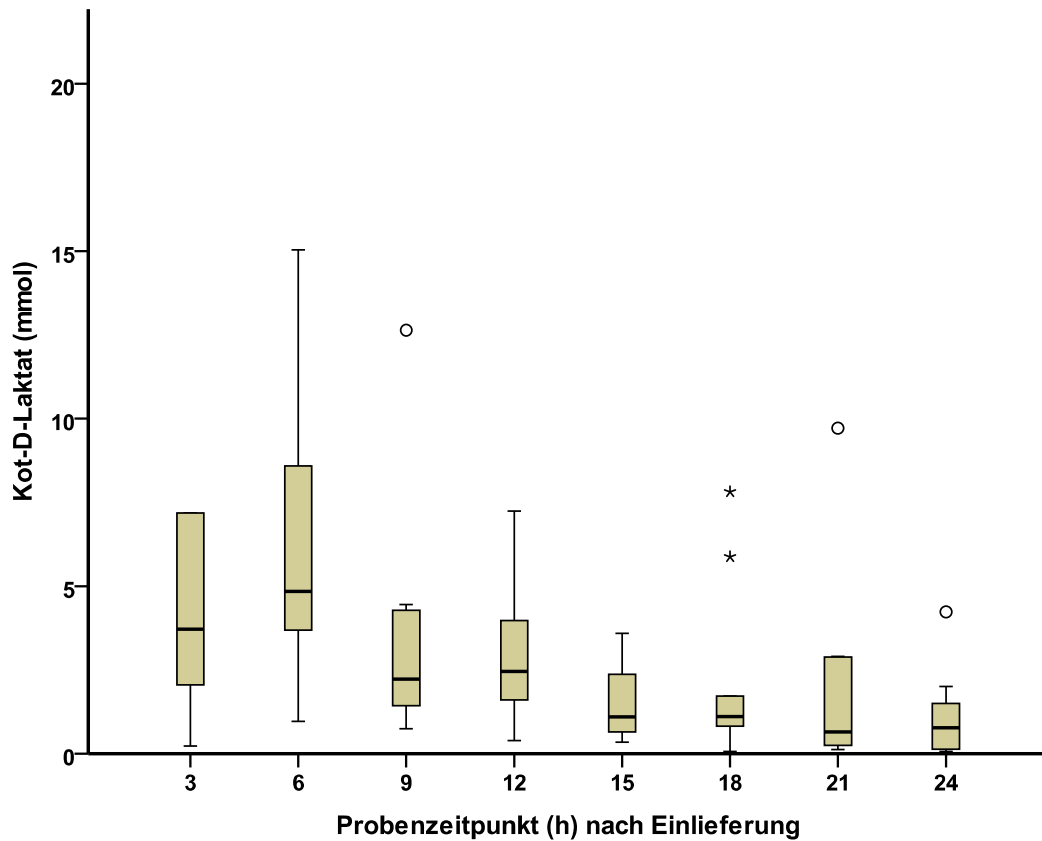


Abbildung 8: Verlauf der D-Laktat-Ausscheidung im Kotwasser (mmol/3 h) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn.

Die D-Laktatkonzentration im Kotwasser hat innerhalb des Untersuchungszeitraums um 69 % abgenommen, die pro Zeiteinheit ausgeschiedene D-Laktatmasse um 83 %.

Zwischen der D-Laktatkonzentration im Serum und im Kotwasser besteht zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten eine korrelative Beziehung wie Tabelle 2 zu entnehmen ist.

Tabelle 2: Korrelation zwischen der D-Laktatkonzentration (mmol/l) im Serum und im Kotwasser zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn

Zeitpunkt (h)	0	3	6	9	12	15	18	21	24
Serum									
D-Laktat- konzentration (Median)	10,7	12,0	10,5	8,9	7,6	6,2	5,4	4,5	3,8
Kot									
D-Laktat- konzentration (Median)	14,7	22,9	19,1	13,5	11,4	13,1	10,5	9,4	7,1
r =	-0,3	-0,05	0,1	0,5	0,7*	0,6	0,7*	0,9**	0,9**

*: $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

2.4 Weitere Blutparameter

2.4.1 Basenexzess und Anionenlücke

Bei den aufgeführten Werten ist zu beachten, dass nur Kälber in die Untersuchung einbezogen wurden, die einen BE kleiner -9 mmol/l und eine Anionenlücke über 20 meq/l aufweisen. Bei sieben Probanden liegt zum Zeitpunkt der Einlieferung eine deutliche Azidose ($BD < 21$ mmol/l) vor. Drei Stunden nach Einlieferung hatten alle Probanden bereits 2 Liter Infusion mit Nabic in unterschiedlicher Masse (berechnet nach Formel (2)) erhalten. Die Azidose ist zu diesem Zeitpunkt bei allen Tieren ausgeglichen, wobei zwei Tiere nun eine leichte Alkalose ($BE > 6$ mmol/l) aufweisen, bei drei Tieren lag der BE im Referenzbereich, bei den restlichen fünf nur leicht über dem Referenzbereich (BE zwischen 4 und 5 mmol/l). Dementsprechend verhält sich der Verlauf des BE auch über den restlichen Probenzeitraum. Bei keinem der Probanden sinkt der BE unter den Referenzbereich, allerdings haben 24 Stunden nach Einlieferung noch vier Kälber eine leichte Alkalose ($BE > 8$ mmol/l), bei vier Kälbern liegt der BE leicht über dem Referenzbereich (BE zwischen 4 und 5 mmol/l), bei zwei Probanden liegt er im Referenzbereich (vgl. Tabelle 3).

Den zehn Probanden wurde im Untersuchungszeitraum durchschnittlich 2,2 g/kg

Nabic verabreicht.

Tabelle 3: Basenexzess der Probanden zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert mit Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
BE Referenz- bereich -2,5 bis 2,5 mmol/l	0 h (Einlieferung)	-20,2 ± 5,9	-21,9	-8,5	-25,5
	3 h	4,3 ± 4,0	4,7	12,2	-2,0
	6 h	3,7 ± 2,4	4,1	7	0,3
	12 h	5,6 ± 2,7	5,6	9,4	1,1
	24 h	6,6 ± 3,2	6,2	10,9	1,3

Tabelle 4 zeigt die Werte der Anionenlücke zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Wie bereits erwähnt, wurden nur Kälber mit einer AL > 20 meq/l in die Untersuchung einbezogen. So haben zu Untersuchungsbeginn vier Probanden Werte zwischen 20,8 meq/l und 28,7 meq/l, bei sechs Kälber ist die AL deutlich erhöht (> 30 meq/l).

Im weiteren Verlauf sinken die Werte der AL wieder ab, auffällig ist jedoch, dass bei 3 Probanden die AL nach 24 h weit unterhalb des Referenzbereiches liegt (< 9 meq/l).

Tabelle 4: Werte der Anionenlücke (meq/l) zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert mit Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
Anionenlücke Referenzbereich 14-26 meq/l	0 h (Einlieferung)	30,2 ± 5,8	31,0	39,3	20,8
	3 h	25,1 ± 7,5	23,7	37,4	12,1
	6 h	21,6 ± 5,3	21,9	30,4	9,9
	12 h	16,6 ± 4,5	17,5	21,7	7,2
	24 h	12,1 ± 3,6	11,5	16,5	7,0

In Abbildung 9 ist der Verlauf von Serum-D-Laktatkonzentration und AL graphisch dargestellt

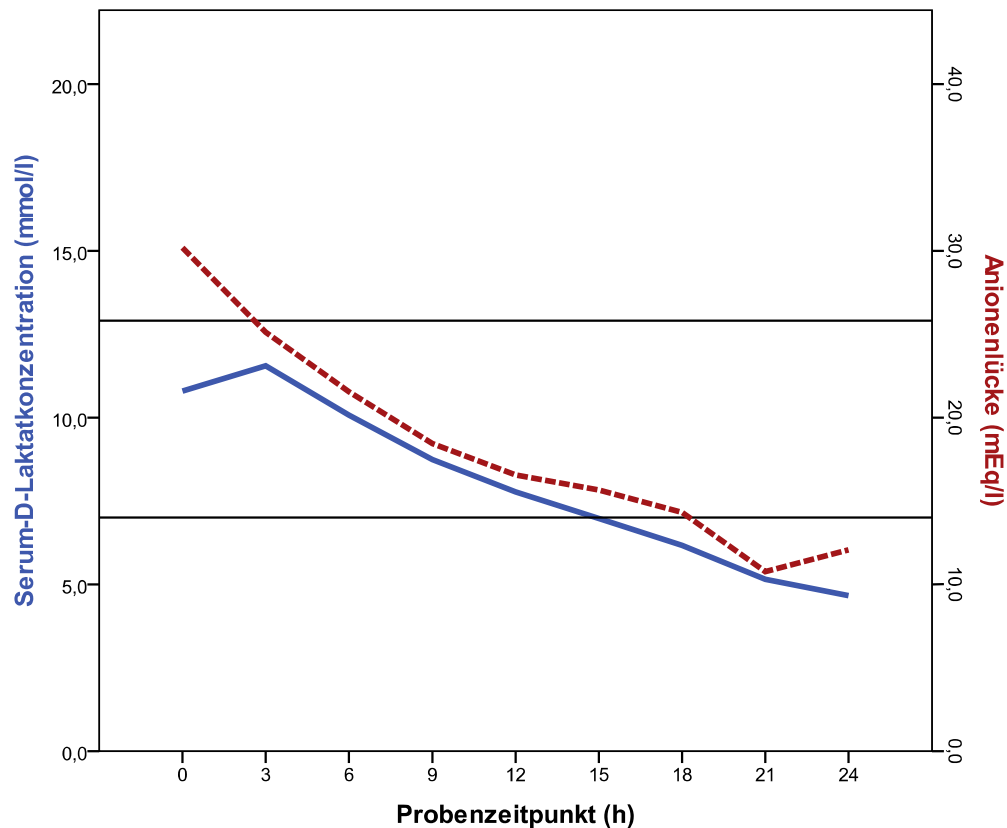


Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf von Serum-D-Laktat und AL im Vergleich; die durchgezogene Linie markiert die Serum-D-Laktatkonzentration, die gestrichelte Linie die AL. Die beiden schwarzen Linien markieren den Referenzbereich der AL (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

2.4.2 Kreatinin- und Harnstoffkonzentration

Zu Untersuchungsbeginn liegt bei acht von zehn Probanden die Serum-Kreatininkonzentration über dem Referenzbereich.

So beträgt die mediane Serum-Kreatininkonzentration zu Beginn 176,3 $\mu\text{mol/l}$ (durchschnittlich $275 \pm 232,5 \mu\text{mol/l}$), wobei der höchste Wert bei 701,4 $\mu\text{mol/l}$ liegt. Im Verlauf sinkt die Kreatininkonzentration bei allen Kälbern ab und liegt nach 24 Stunden bei acht der zehn Kälber wieder innerhalb des Referenzbereiches und beträgt median 69,8 $\mu\text{mol/l}$ ($94,7 \pm 51,3 \mu\text{mol/l}$), lediglich bei zwei Kälbern ist die Serum-Kreatininkonzentration noch erhöht (203 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 166,8 $\mu\text{mol/l}$)

(siehe Abbildung 10).

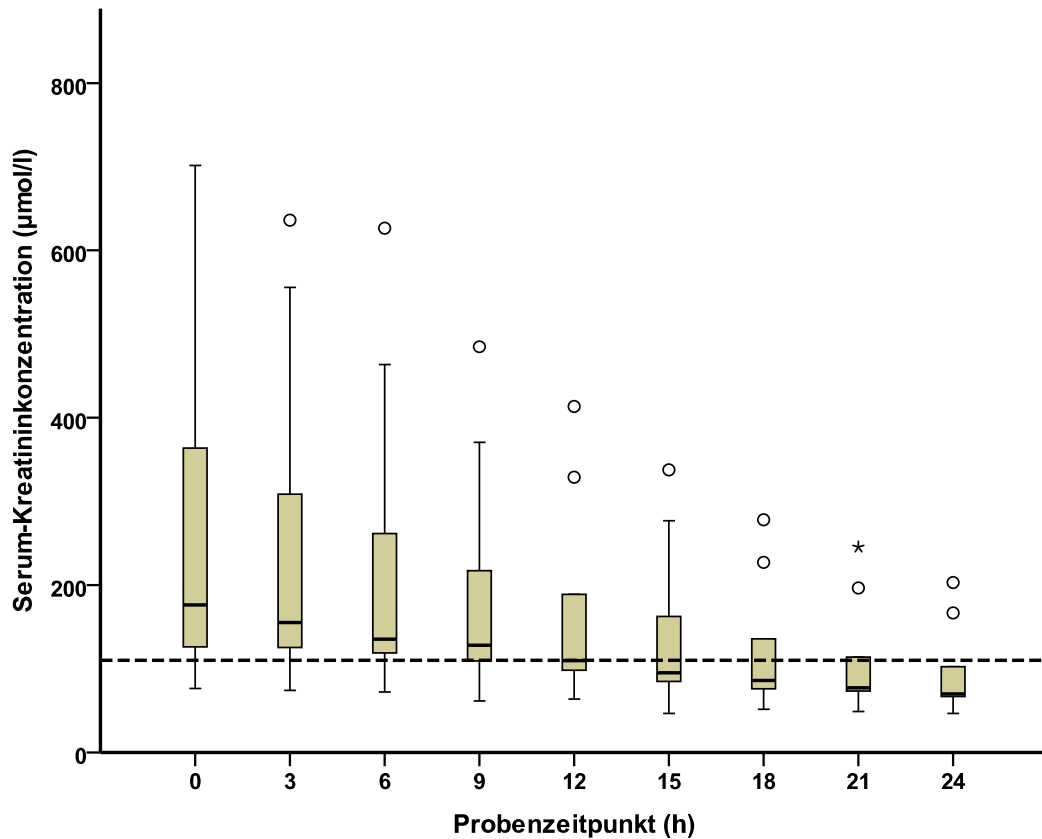


Abbildung 10: Serum-Kreatininkonzentration (µmol/l) zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h) nach Einlieferung; die gestrichelte Linie markiert die Obergrenze des Referenzbereichs (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

Zu Untersuchungsbeginn ist die Serum-Harnstoffkonzentration bei allen zehn Probanden deutlich erhöht und liegt median bei 20,9 mmol/l ($20,9 \pm 11,7$ mmol/l). Im weiteren Verlauf der Messungen kommt es zu einem deutlichen Absinken der Werte, wobei jedoch die Harnstoffkonzentration nach 24 Stunden nur bei zwei Kälbern wieder im Referenzbereich liegt, der mediane Wert beträgt 7,6 mmol/l ($8,5 \pm 4,6$ mmol/l) (siehe Abbildung 11).

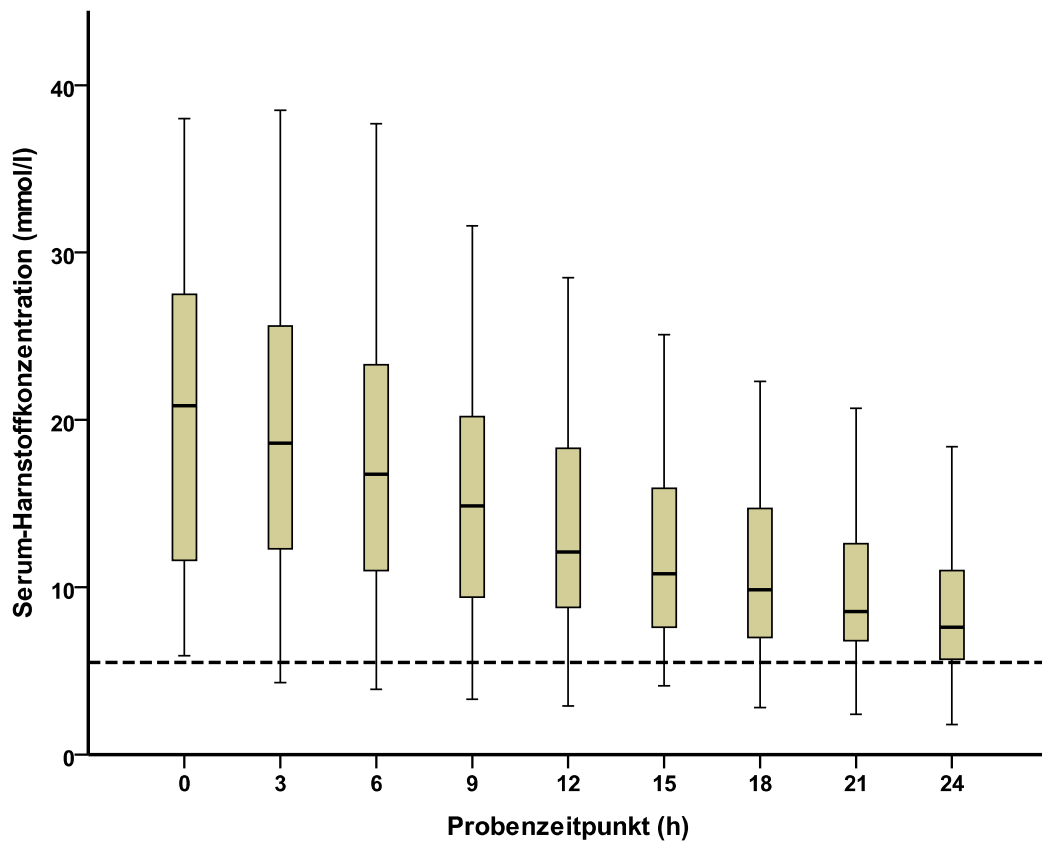


Abbildung 11: Harnstoffkonzentration (mmol/l) im Serum zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn; die gestrichelte Linie markiert die Obergrenze des Referenzbereichs (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

2.4.3 Gesamteiweiß und Albumin

Die Gesamteiweißkonzentration im Serum liegt anfangs (0 h) bei 60,9 g/l ($62,2 \pm 8,7$ g/l) und ist nach drei Stunden auf 48,1 g/l ($48,2 \pm 4,0$ g/l) abgesunken. Zu den weiteren Probenzeitpunkten bleibt die GE-Konzentration auf diesem Niveau (vgl. Abbildung 12).

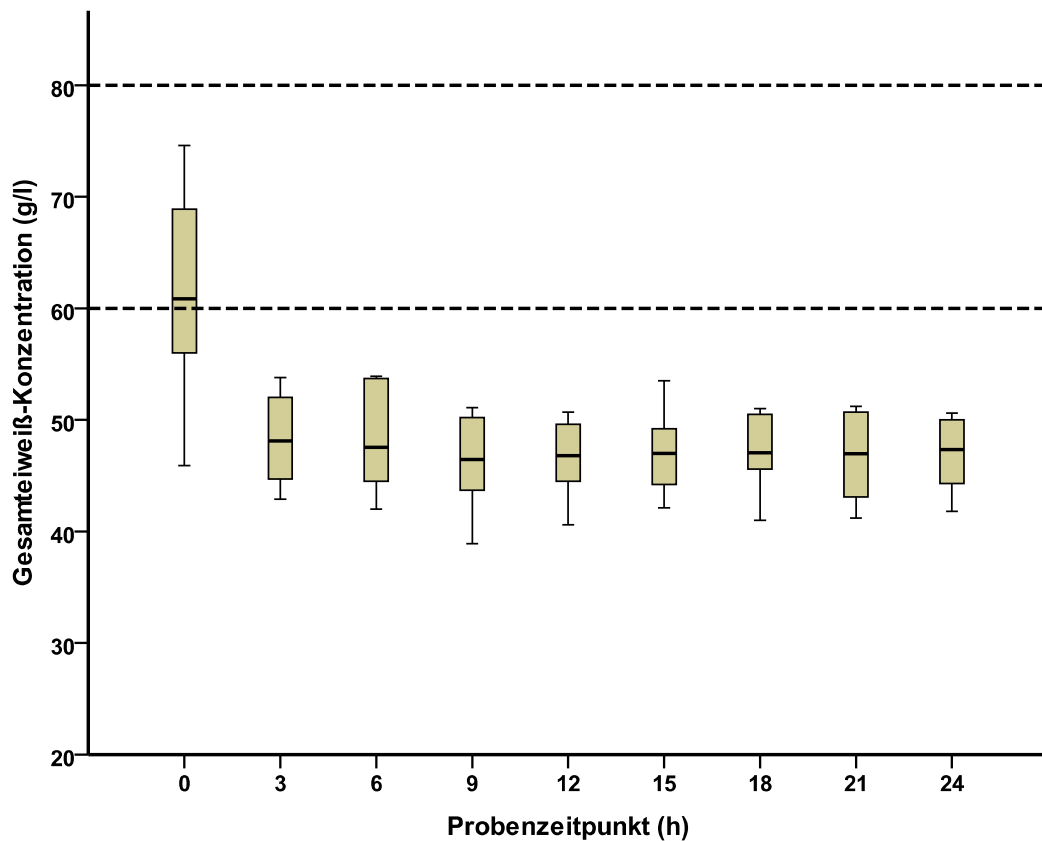


Abbildung 12: Konzentration von GE (g/l) im Serum zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h); die beiden gestrichelten Linien markieren den Referenzbereich (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

Die Albuminkonzentration liegt eingangs bei vier Probanden im Referenzbereich, bei den restlichen sechs Tieren sogar unterhalb des Referenzbereiches von 30-40 g/l und beträgt median 29,3 g/l ($30,5 \pm 3,8$ g/l). Nach drei Stunden liegt die mediane Albuminkonzentration bei 24,3 g/l ($24,5 \pm 1,1$ g/l) und bleibt im weiteren Verlauf auf diesem Niveau, liegt also bei allen zehn Probanden unterhalb des Referenzbereiches (vgl. Abbildung 13).

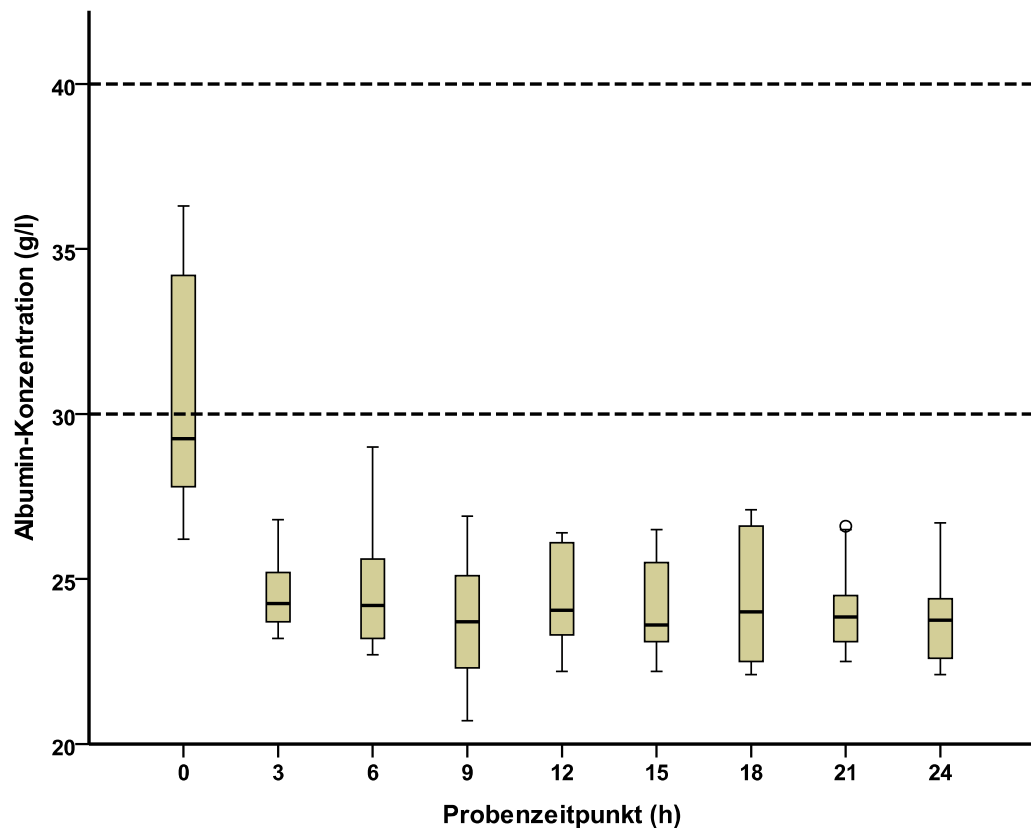


Abbildung 13: Albuminkonzentration (g/l) im Serum zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h); die beiden gestrichelten Linien markieren den Referenzbereich (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

2.4.4 Hämatokrit

Der Hämatokrit der zehn Probanden liegt zum Zeitpunkt der Einlieferung median bei 42 % ($41,9 \pm 8,3$ %). Bei sieben Patienten ist der Hämatokrit deutlich erhöht, wobei der höchste Wert 55,0 % beträgt, bei zwei Kälbern liegt er im Referenzbereich (30-36 %), bei einem Kalb unterhalb des Referenzbereichs (27 %). Bereits nach drei Stunden liegt der Hämatokritwert bei sieben Probanden wieder im Referenzbereich, lediglich bei drei Kälbern ist er noch erhöht (40-46 %), der mediane Wert liegt bei 32,5 % ($34,2 \pm 6,8$ %). Im weiteren Verlauf bleibt der Hämatokritwert im Mittel auf diesem Niveau (vgl. Abbildung 14). Nach 24 Stunden weist lediglich ein Kalb mit 41 % noch einen erhöhten Hämatokrit auf.

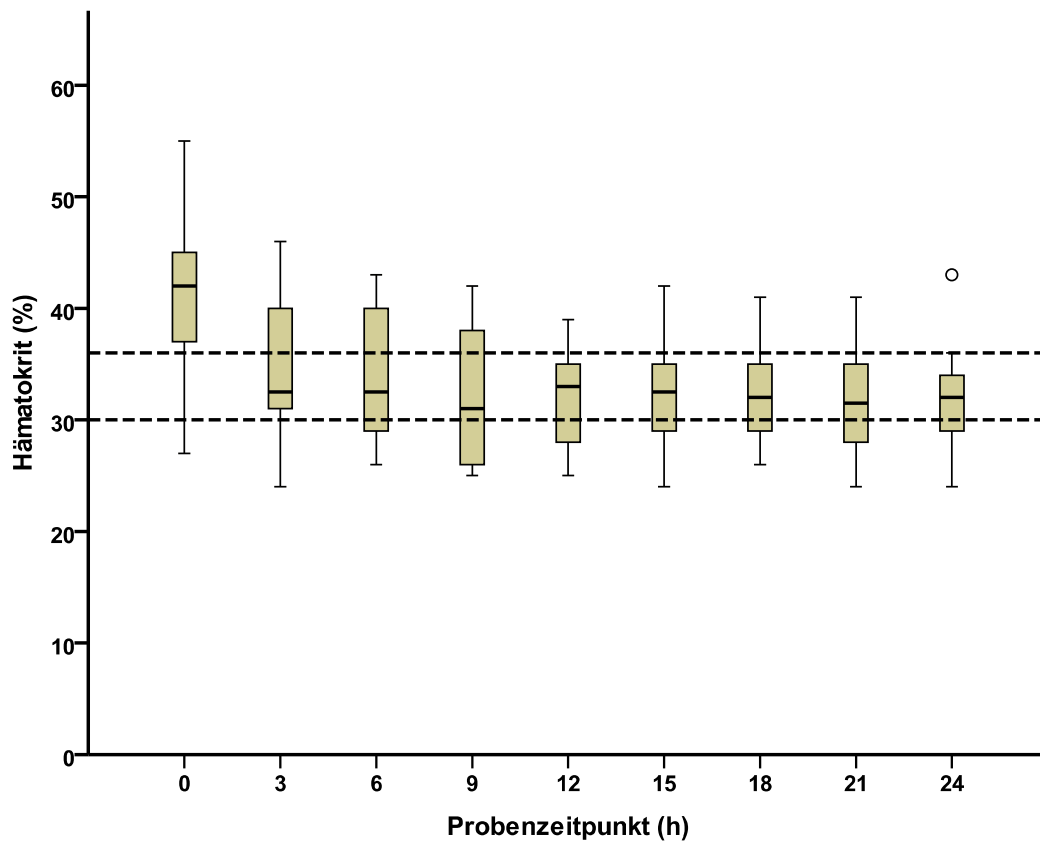


Abbildung 14: Hämatokrit (%) der Probanden zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h); die beiden gestrichelten Linien markieren den Referenzbereich (nach STÖBER u. GRÜNDER 1990)

2.5 Bestimmungen im Harn

2.5.1 Harnvolumen und Harnminutenvolumen

Während der Studie erfolgt die quantitative Harnsammlung über 24 Stunden, wobei in regelmäßigen Abständen von drei Stunden das absolute Harnvolumen bestimmt wurde (siehe Tabelle 5). Dieses liegt nach den ersten drei Stunden bei median 230,0 ml ($241,4 \pm 162,5$ ml). Bei den folgenden Messungen ist eine deutliche Reaktion auf die eingeleitete Flüssigkeitstherapie zu erkennen. So steigt das absolute Harnvolumen nach sechs Stunden auf median 338,5 ml ($427,5 \pm 275,3$ ml) an. Der Anstieg des Harnvolumens von drei Stunden zu sechs Stunden nach Untersuchungsbeginn ist signifikant ($p = 0,028$).

Tabelle 5: Harnvolumen (ml/3h) der zehn Probanden

Messzeitpunkt	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	241,1	427,5	616,7	640,9	500,9	567,1	627,9	730,7
Standard-abweichung	162,5	275,3	352,7	246,5	217,0	285,2	399,0	494,3
Median	230,0	338,5	576,5	560,0	525,0	522,5	500,0	694,5
Maximum	500,0	950,0	1500,0	1000,0	858,0	1132,0	1510,0	1760,0
Minimum	5,0	6,0	307,0	291,0	27,0	180,0	140,0	123,0

Das Harnminutenvolumen der zehn Probanden ist in Tabelle 6 dargestellt. Der Anstieg des Harnminutenvolumens zwischen Probenzeitpunkt drei Stunden und sechs Stunden nach Untersuchungsbeginn ist signifikant ($p = 0,036$).

Tabelle 6: Harnminutenvolumen (ml/min) der zehn Probanden

Messzeitpunkt t	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	1,34	2,38	3,43	3,56	2,78	3,15	3,49	4,06
Standard-abweichung	0,90	1,53	1,96	1,37	1,21	1,58	2,22	2,75
Median	1,28	1,88	3,20	3,11	2,92	2,90	2,78	3,86
Maximum	2,78	5,28	8,33	5,56	4,77	6,29	8,39	9,78
Minimum	0,03	0,03	1,71	1,62	0,15	1,00	0,78	0,68

2.5.2 Kreatininkonzentration im Harn

In Tabelle 7 ist die Kreatininkonzentration im 3-Stunden-Harn aufgeführt. Drei Stunden nach Beginn der Harnsammlung beträgt die mediane Kreatininkonzentration im Harn 5,5 mmol/l ($6,1 \pm 1,3$ mmol/l). Bereits zum nächsten Probenzeitpunkt (6 h) ist die Kreatininkonzentration deutlich abgesunken und bleibt in den folgenden drei Messzeiträumen (9 h, 12 h, 15 h) relativ konstant, steigt jedoch nach 18 Stunden mit median 4,4 mmol/l ($5,7 \pm 2,7$ mmol/l) wieder etwas an und bleibt bis Untersuchungsende auf diesem Niveau.

Tabelle 7: Kreatininkonzentration im Harn (mmol/l)

Messzeitpunkt	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	6,1	3,8	3,8	3,9	4,0	5,7	4,4	4,3
Standard-abweichung	1,3	0,6	1,1	1,6	0,9	2,7	3,5	2,1
Median	5,5	3,8	3,5	3,6	3,5	4,4	4,4	4,6
Maximum	7,6	4,2	5,0	5,6	5,1	8,8	7,9	6,2
Minimum	5,2	3,4	2,7	2,4	3,5	3,8	1,0	2,1

2.5.3 Kreatinin-Clearance

In Tabelle 8 ist der Verlauf der Kreatinin-Clearance (ml/min/kg) der Probanden dargestellt. Die Clearance steigt bis neun Stunden nach Untersuchungsbeginn an und bleibt in den restlichen Untersuchungszeiträumen auf einem relativ gleichen Niveau.

Tabelle 8: Kreatinin- Clearance (ml/min/kg)

Messzeitpunkt	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	1,8	1,5	2,3	2,2	2,1	2,7	2,4	2,4
Standard-abweichung	0,4	0,6	1,2	0,9	1,7	0,9	1,1	0,8
Median	1,7	1,5	2,6	1,7	2,9	2,9	2,7	2,2
Maximum	2,3	1,9	3,4	3,3	3,2	3,4	3,4	3,3
Minimum	1,4	1,1	1,0	1,7	0,1	1,6	1,2	1,7

2.5.4 D-Laktat-Clearance

In Abbildung 15 ist der zeitliche Verlauf der D-Laktat-Clearance (ml/min) dargestellt. Die mediane Clearance beträgt drei Stunden nach Untersuchungsbeginn 3,9 ml/min ($3,9 \pm 2,9$ ml/min). Nach weiteren drei Stunden steigt die mediane Clearance deutlich an auf 10,1 ml/min ($9,5 \pm 6,0$ ml/min). Dieser Anstieg ist signifikant ($p = 0,037$). Bis 18 Stunden nach

Untersuchungsbeginn steigt die Clearance weiter an und bleibt dann in etwa auf diesem Niveau.

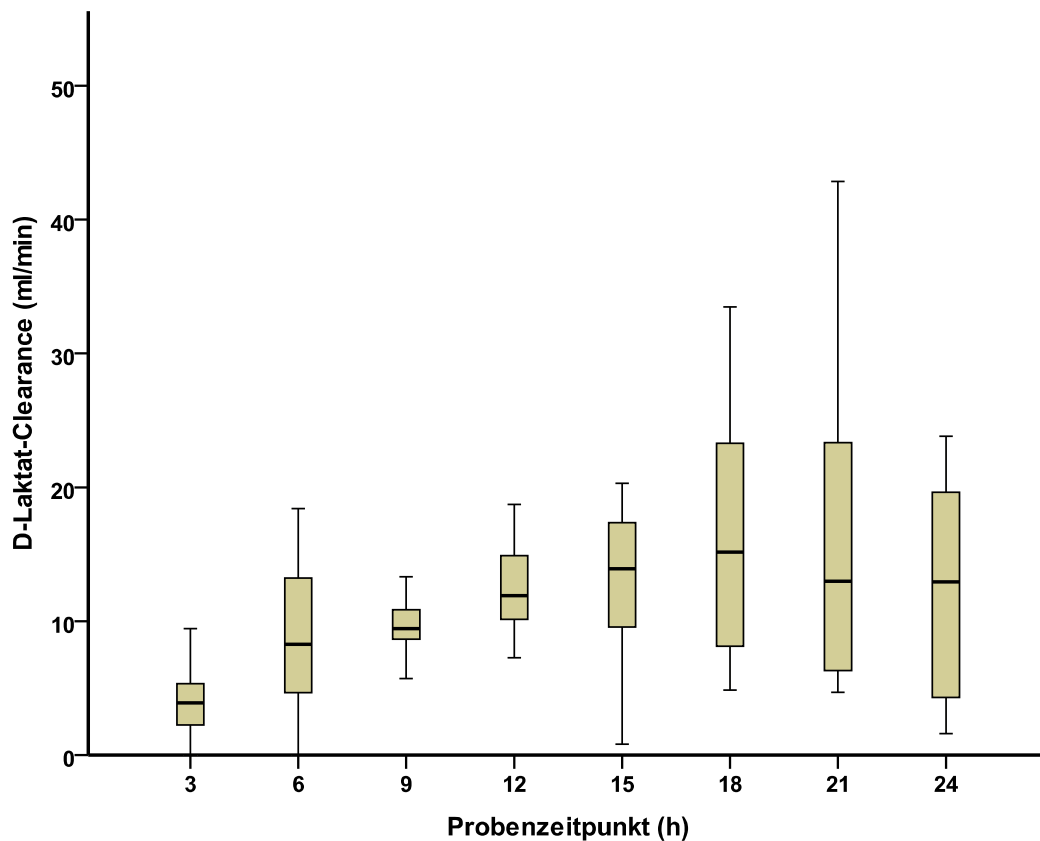


Abbildung 15: D-Laktat-Clearance (ml/min) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h) nach Untersuchungsbeginn

Die Werte der D-Laktat-Clearance (ml/min/kg) sind Tabelle 9 zu entnehmen. Die Clearance steigt bis 18 Stunden nach Untersuchungsbeginn an und bleibt dann bis zum Ende der Untersuchung auf diesem Niveau. Der Anstieg der Clearance zwischen Probenzeitpunkt drei Stunden und sechs Stunden nach Untersuchungsbeginn ist signifikant ($p = 0,021$).

Tabelle 9: D-Laktat-Clearance (ml/min/kg)

Messzeitpunkt	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	0,09	0,21	0,22	0,28	0,27	0,34	0,32	0,28
Standard-abweichung	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Median	0,09	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
Maximum	0,20	0,40	0,35	0,42	0,42	0,69	0,86	0,49
Minimum	0,0002	0,0005	0,15	0,17	0,02	0,10	0,10	0,03

2.5.5 Korrelation zwischen D-Laktat-Clearance und Harnminutenvolumen

Wie Tabelle 10 zu entnehmen ist, besteht zu den Probenzeitpunkten 3 h, 6 h, 15 h, 18 h, 21 h und 24 h nach Studienbeginn eine deutliche korrelative Beziehung der D-Laktat-Clearance (ml/min/kg) zum HMV. Lediglich 9 h und 12 h nach Einlieferung kann keine Korrelation festgestellt werden.

Tabelle 10: Korrelation zwischen D-Laktat-Clearance (ml/min/kg) und HMV zu unterschiedlichen Untersuchungszeiträumen

Messzeitraum	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
r =	0,70	0,92	0,21	0,27	0,58	0,76	0,84	0,64

2.5.6 Eliminationsfraktion von D-Laktat

In Tabelle 11 sind die Werte der Eliminationsfraktion von D-Laktat (%), das heißt der Anteil des glomerulär filtrierten D-Laktats, der mit dem Endharn ausgeschieden wird, dargestellt.

Tabelle 11: Eliminationsfraktion von D-Laktat (%) an den verschiedenen Messzeitpunkten

Messzeitpunkt	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	10	14	12	15	12	12	17	9
Standard-abweichung	3	5	9	6	1	5	9	6
Median	8	14	7	12	12	14	17	10
Maximum	15	18	23	22	13	14	25	14
Minimum	2	10	7	11	12	6	8	1

2.6 Bestimmungen im Kot

2.6.1 Kotmasse und Kotwassergehalt

Da mit der quantitativen Kotsammlung erst nach Untersuchungsbeginn (0 h)

begonnen wurde, stellt die in Tabelle 12 aufgeführte Kotmasse zum Messzeitpunkt 0 h lediglich die bei der Eingangsuntersuchung gewonnene Masse Kot dar. Unmittelbar nach der Eingangsuntersuchung wurde die Kotsammelvorrichtung angebracht, so dass zum Messzeitpunkt 3 h die absolute Masse angegeben ist. Die Kotmasse nimmt im Untersuchungszeitraum um 42 % ab.

Tabelle 12: Kotmasse (g) zu den unterschiedlichen Untersuchungszeiträumen

Messzeitraum	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	86	413	352	239	269	178	167	125	142
Standard-abweichung	143	425	190	171	171	180	131	103	97
Median	34	268	321	177	222	142	114	96	156
Maximum	485	1452	719	490	638	651	396	375	301
Minimum	7	25	132	60	101	28	31	18	8

Bei den Patienten beträgt die Masse an Kot pro Tag zwischen 814 g und 3118 g, durchschnittlich liegt sie bei 2050 g.

Die Ergebnisse der Berechnung des Wasseranteils im Kot (%) sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Kotwasseranteil (%) zu den unterschiedlichen Untersuchungszeiträumen

Messzeitraum	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	82	88	91	90	91	89	91	91	87
Standard-abweichung	13,0	9,8	3,6	4,7	3,1	6,9	2,8	4,6	9,3
Maximum	96	95	93	96	95	97	95	95	97
Minimum	66	62	81	82	85	77	87	81	69

Bei den Probanden gingen am Tag 722 ml bis 2941 ml, durchschnittlich 1831 ml Wasser über den Kot verloren.

2.6.2 Kot-pH

In Tabelle 14 sind die Kot-pH-Werte zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten aufgeführt. Zu Untersuchungsbeginn beträgt das Kot-pH durchschnittlich 6,3 ($5,7 \pm 0,7$), wobei die Werte aber über einen weiten Bereich streuen. So liegt bei zwei Probanden das Kot-pH im stark sauren Bereich (4,9 und 5,4). Bei vier Tieren liegt der pH-Wert zwischen 5,5 und 6,4, bei den restlichen vier liegt das Kot-pH über 6,5, der höchste Wert beträgt 7,4. Nach sechs Stunden ist das Kot-pH auf 6,9 ($6,2 \pm 0,7$) angestiegen. Bei zwei Probanden liegt der pH-Wert immer noch im stark sauren Bereich (5,5), bei den restlichen acht Kälbern liegt er zwischen 6,6 und 7,5.

Nach 24 Stunden beträgt der pH-Wert durchschnittlich 6,8 ($6,3 \pm 0,7$), bei einem Kalb liegt er zu diesem Zeitpunkt noch im deutlich sauren Bereich (5,4).

Tabelle 14: Kot-pH-Werte der Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeiträumen

Messzeitraum	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
Mittelwert	5,7	5,8	6,2	6,7	5,8	6,6	6,4	6,4	6,3
Standard-abweichung	0,7	0,7	0,7	0,3	0,8	0,5	0,6	0,7	0,7
Median	6,3	6,3	6,9	6,9	6,9	6,7	6,9	7,1	6,8
Maximum	7,4	7,1	7,5	7,2	7,4	7,5	7,5	7,8	8,0
Minimum	4,9	5,1	5,5	6,3	5,0	6,0	5,6	5,5	5,4

2.6.3 Korrelation zwischen Kot-pH und Kot-D-Laktatkonzentration

Wie in Abbildung 16 dargestellt, besteht zwischen Kot-D-Laktatgehalt (mmol/l) und Kot-pH-Wert eine mäßige korrelative Beziehung. Der Korrelationskoeffizient beträgt -0,439 ($p < 0,01$).

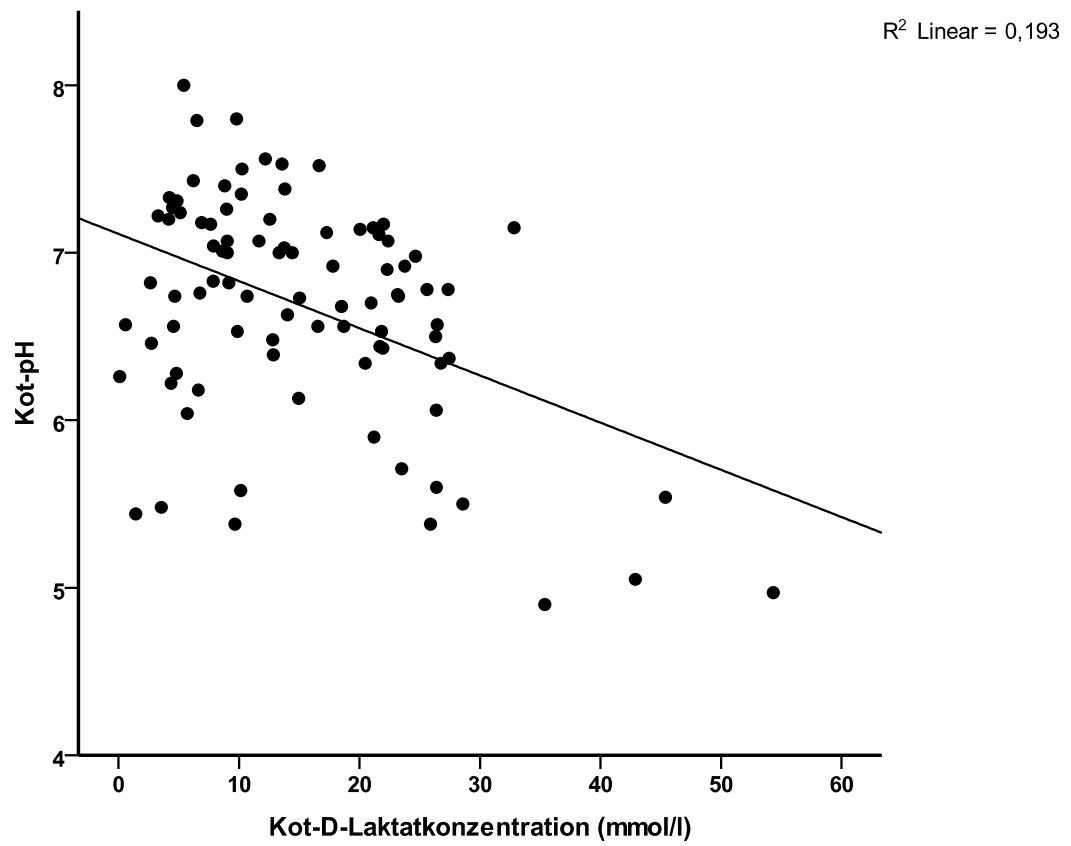


Abbildung 16: Korrelation zwischen D-Laktatkonzentration im Kotwasser (mmol/l) und Kot-pH-Wert

V DISKUSSION

Bei den Probanden in der vorliegenden Arbeit handelt es sich um an Neugeborenendurchfall erkrankte Kälber, die als Patienten in die Klinik für Wiederkäuer eingeliefert wurden. Alle ausgewählten Kälber hatten eine D-Laktatazidose. Durch die quantitative Sammlung von Harn und Kot konnte die Ausscheidung von D-Laktat im Harn und Kot über den Untersuchungszeitraum von 24 Stunden gemessen werden. Durch regelmäßige Probenentnahmen in Abständen von drei Stunden wurde der Verlauf von D-Laktat und weiteren ausgewählten Blutparametern bestimmt. Besonderes Augenmerk wurde dabei unter anderem auch auf den Verlauf des BE und einen raschen und sicheren Ausgleich der Azidose gelegt.

Eine Erhöhung der D-Laktatkonzentration ist bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall eine häufige Ursache für Azidose. So hatten in Untersuchungen von VOGT (2004) und HAASE (2006) rund 83 % der untersuchten Kälber mit Azidose ($BD > 10 \text{ mmol/l}$) erhöhte D-Laktatkonzentrationen im Serum. Bei beiden Untersuchungen wies immer noch ein hoher Anteil der betroffenen Kälber nach 24 Stunden erhöhte D-Laktatwerte auf, allerdings waren die D-Laktatkonzentrationen zum Ende der Untersuchung bei nahezu allen Kälbern deutlich abgesunken.

Daher stellt sich die Frage, warum es bei Kälbern nach Ausgleich der metabolischen Azidose und der Flüssigkeitsverluste zu einem Absinken der D-Laktatkonzentration kommt, obwohl weiterhin Durchfall besteht. Außerdem soll in der vorliegenden Untersuchung geklärt werden, in welchem Ausmaß D-Laktat bei an Neugeborenendurchfall erkrankten Kälbern mit D-Laktatazidose metabolisiert und zu welchem Anteil es über den Harn ausgeschieden wird.

Mögliche Faktoren die zum Absinken der D-Laktatkonzentration führen sind:

1. Erhöhung des Metabolismus von D-Laktat
2. Erhöhung der renalen Exkretion von D-Laktat
3. Verminderung der Produktion von D-Laktat im GIT
4. Verminderung der Resorption von D-Laktat aus dem GIT

Die Beeinflussung der D-Laktatkonzentration durch Erhöhung der renalen Exkretion, sowie Verminderung der Produktion und Resorption konnten im

Rahmen dieser Studie näher betrachtet werden.

Bei allen zehn Probanden sinkt im Verlauf der Untersuchung die D-Laktatkonzentration im Serum ab, jedoch liegt sie nach 24 Stunden lediglich bei fünf Tieren wieder im Referenzbereich. Auffällig ist zudem, dass die mediane Serum-D-Laktatkonzentration drei Stunden nach Untersuchungsbeginn, trotz eingeleiteter Therapie mittels Dauertropfinfusion, nochmals angestiegen ist. Dies stimmt mit der Beobachtung von VOGT (2004) überein. In deren Untersuchung war die mediane D-Laktatkonzentration der Probanden vier Stunden nach Untersuchungsbeginn unverändert, trotz erfolgter Korrektur der Azidose und weitestgehendem Ausgleich der Flüssigkeitsverluste. Zwei Kälber, bei denen die D-Laktatkonzentration zu Beginn der Untersuchung noch im Referenzbereich ($< 4 \text{ mmol/l}$) lag, wiesen nach vier Stunden sogar erhöhte Werte auf. Auch in der vorliegenden Untersuchung hatten alle Kälber drei Stunden nach Untersuchungsbeginn mindestens zwei Liter Infusionslösung erhalten. Durch die Infusion muss bereits ein Verdünnungseffekt eingetreten sein. Dies zeigt sich anhand des Verlaufes der Konzentrationen von Albumin und GE im Serum und anhand des Hämatokritwertes. Nach drei Stunden sind deren Konzentrationen im Vergleich zu Untersuchungsbeginn stark abgesunken und bleiben auch im weiteren Verlauf der Untersuchung in etwa auf dem gleichen Niveau. Der Anstieg der D-Laktatkonzentration im Serum ist, trotz Verdünnungseffekt durch die Infusion, nur durch eine weiterhin bestehende Produktion und Resorption von D-Laktat im GIT zu erklären.

Für den Abbau von D-Laktat ist das unspezifische Enzym D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase verantwortlich. In vitro ist dessen Aktivität bei niedrigen pH-Werten eingeschränkt (TUBBS 1965). Deshalb war ein wichtiges Kriterium in dieser Studie die bestehende Azidose möglichst rasch und sicher auszugleichen, sowie laufende Verluste von Bikarbonat zu ersetzen. Um dieses Ziel zu erreichen wurde eine standardisierte Therapie eingesetzt. Dazu wurde die zum Ausgleich der Azidose benötigte Masse Nabic anhand der Formel $\text{BE} \times \text{KG} \times \text{Faktor } 0,8$ berechnet und in einem Volumen von 2 Liter innerhalb von zwei Stunden nach Untersuchungsbeginn verabreicht. Der Dosierungsfaktor 0,8 wurde gewählt, da Untersuchungen zeigten, dass Kälber mit D-Laktatazidose einen höheren Bedarf an Nabic haben als Kälber mit reiner Subtraktionsazidose und auch häufiger eine

Wiederholungsbehandlung benötigen (VOGT 2004). Deshalb wurde im Anschluss eine DTI durchgeführt, um laufende Verluste auszugleichen. Dazu wurde die verabreichte Masse Nabic ausgehend von einem BD von 10 mmol/l mit Faktor 0,8 berechnet, das Volumen wurde anhand des Grades der Dehydratation bestimmt. Das BD war nach drei Stunden bei allen Kälbern in der vorliegenden Untersuchung ausgeglichen, bei keinem Kalb kam es während des Untersuchungszeitraums zu einem erneuten Absinken des BE unterhalb des Referenzbereichs.

Auffällig bei der vorliegenden Untersuchung ist, dass die beiden Kälber mit dem niedrigsten BD die höchsten D-Laktatkonzentrationen aufweisen. Beide Kälber waren allerdings schon vorbehandelt, ein Kalb bereits zwei Tage vor Untersuchungsbeginn mit einer DTI, das andere Kalb einen Tag vor Untersuchungsbeginn mittels Sturzinfusion mit Nabic. Bei diesen beiden Kälbern wurde wahrscheinlich trotz der Therapie weiterhin D-Laktat produziert und resorbiert, wodurch sich die hohen D-Laktatkonzentrationen im Serum erklären lassen. Die im Vergleich zu den anderen Probanden geringgradige Azidose lässt sich dadurch erklären, dass beiden Kälbern bereits Nabic zugeführt wurde. Vermutlich war aber die Puffermenge nicht ausreichend um die Azidose auszugleichen. Bei dem Kalb welches mit DTI behandelt wurde, war wohl trotz der erfolgten Flüssigkeitstherapie der Ausgleich des BD nicht erreicht worden. Zusätzlich muss weiterhin in so großen Mengen D-Laktat im GIT produziert und resorbiert worden sein, dass das Kalb entweder erneut eine D-Laktatazidose entwickelt hat oder die bereits bestehende D-Laktatazidose durch die DTI nicht beeinflusst wurde. Außerdem muss beachtet werden, dass die Aktivität des Enzyms D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase, welches für die Metabolisierung von D-Laktat verantwortlich ist, in vitro bei niedrigem pH-Werten eingeschränkt ist (TUBBS 1965). Somit könnte bei diesen beiden Kälbern zusätzlich eine Verminderung der Metabolisierung des D-Laktats stattgefunden haben. Dies wäre ebenfalls ein Erklärungsgrund für die hohen Serum-D-Laktatkonzentrationen zu Untersuchungsbeginn. Die Azidose war drei Stunden nach Untersuchungsbeginn bei allen Kälbern ausgeglichen. Im weiteren Untersuchungszeitraum kam es bei keinem der Kälber zu einem erneuten Absinken des BE unterhalb des Referenzbereichs. Ob es durch den vollständigen und dauerhaften Ausgleich der Azidose zu einer Steigerung des Metabolismus von D-Laktat gekommen ist, kann

im Rahmen dieser Studie nicht sicher geklärt werden. Da aber durchschnittlich nur 12 % des filtrierte D-Laktats im Endharn ausgeschieden werden, erfolgt in dieser Untersuchung wohl ein Großteil der Eliminierungsprozesse durch Metabolisierung von D-Laktat. Dabei spielt die Oxidation von D-Laktat zu CO_2 eine Rolle; eine hohe Oxidationsrate wird jedoch nur bei niedrigen D-Laktatkonzentrationen (bis 3,8 mmol/l bei Ziegen) erreicht. Ab Konzentrationen von 4,25 mmol/l sinkt die Oxidationsrate. Allerdings ist die Transformation von D-Laktat in Glucose und somit Transfer von D-Laktat in die Gluconeogenese ein bedeutender Eliminierungsweg (GIESECKE u. STANGASSINGER 1979). Nach Messungen dieser Autoren fließen rund 14 % des D-Laktats in die Gluconeogenese. Diese Eliminierungsprozesse konnten in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht werden. Die höchsten Konzentrationen der D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase können in Leber und Niere gefunden wurden. Somit kann tubulär rückresorbiertes D-Laktat in der Niere zu Pyruvat verstoffwechselt und in die Gluconeogenese eingeschleust werden (TUBBS 1965; COMMACK 1969). Durch Steigerung der Nierendurchblutung könnte somit auch die Verstoffwechselung von D-Laktat gefördert werden.

Die Halbwertszeit für D-Laktat liegt bei den zehn Probanden in der vorliegenden Studie durchschnittlich bei 18 Stunden, wobei zwischen den Probanden starke Schwankungen der HWZ auftreten. So hat das Kalb mit der höchsten D-Laktatkonzentration (13,4 mmol/l) auch die längste HWZ mit 27 Stunden. Die kürzeste HWZ beträgt dagegen nur 12 Stunden, dieses Kalb hat eine D-Laktatkonzentration von 10,9 mmol/l. Die HWZ ist mit der D-Laktatkonzentration zu Untersuchungsbeginn korreliert. Dies bestätigt die Ergebnisse der Untersuchung von GIESECKE u. STANGASSINGER (1978), wonach die Eliminierungsgeschwindigkeit von D-Laktat maßgeblich von der Höhe des Blutspiegels abhängig ist. Jedoch haben zwei Kälber mit D-Laktatkonzentrationen von 8,8 mmol/l und 9,3 mmol/l, im Vergleich zu den anderen Kälbern eher niedrige Werte, eine HWZ von 18 Stunden. Es müssen demnach noch andere Faktoren, wie zusätzliche Begleiterkrankungen oder ein schlechter Ernährungszustand, Einfluss auf die HWZ haben. Diese zwei Kälber wurden in der Eingangsuntersuchung als kachektisch eingestuft. Ob es durch die Unterernährung z.B. zu Defiziten in der Vitaminversorgung gekommen ist, konnte im Rahmen dieser Untersuchung nicht geklärt werden. Allerdings ist bekannt,

dass zum Beispiel Thiaminmangel zu einer Verlangsamung des D-Laktat-Stoffwechsels führen kann (ROGGENHOFER 2004). Ob andere Mangelzustände den D-Laktat-Stoffwechsel ebenfalls beeinflussen, müssten weiterführende Untersuchungen klären. Weiterhin muss die Abhängigkeit der HWZ von der Rate der Resorption von D-Laktat aus dem GIT bedacht werden. Ansonsten konnten keine weiteren Faktoren, welche die HWZ beeinflussen, gefunden werden. So hatte das Alter der Kälber keinen Einfluss auf die HWZ. Man muss allerdings beachten, dass die Kälber im Bezug auf ihr Alter vorselektiert waren und nur ab einem Alter von sieben Tagen in die Untersuchung eingeschlossen wurden. Auch die Krankheitsdauer, sowie der Dehydratationsgrad bei Untersuchungsbeginn hatten keinen Einfluss auf die HWZ.

Alle Kälber in dieser Untersuchung waren zu Untersuchungsbeginn dehydriert, allerdings in unterschiedlichen Graden. Der Anstieg des HMD als Reaktion auf die eingeleitete Infusionstherapie zwischen Probenzeitpunkt drei und sechs ist signifikant. Es stellt sich die Frage, ob durch eine Beeinträchtigung der renalen Exkretion aufgrund von Dehydratation die Akkumulation von D-Laktat begünstigt wird. D-Laktatazidose wurde zwar zuerst bei Kälbern ohne klinische Anzeichen einer Dehydratation beschrieben (SCHELCHER et al. 1998). Hierbei muss allerdings bedacht werden, dass klinische Anzeichen einer Dehydratation erst bei einem Flüssigkeitsverlust von 5 % der Körpermasse (STÖBER u. GRÜNDER 1990) auftreten. Demzufolge könnte die Durchblutung der Nieren beeinträchtigt sein ohne klinische Anzeichen einer Dehydratation. EWASCHUK et al. (2004) gehen davon aus, dass eine Verminderung der Nierendurchblutung und dadurch eine Erhöhung der tubulären Resorption von D-Laktat bei dehydrierten Kälbern zur Akkumulation von D-Laktat beiträgt. Demzufolge müsste eine Verbesserung der Nierendurchblutung durch Rehydratation eine Steigerung der D-Laktat Ausscheidung auslösen.

Diese Annahme bestätigte sich in der vorliegenden Untersuchung. Die D-Laktat-Clearance liegt drei Stunden nach Einlieferung bei 3,9 ml/min bzw. 0,1 ml/min/kg. Nach weiteren drei Stunden erfolgt ein signifikanter Anstieg der Clearance, als Reaktion auf die eingeleitete Flüssigkeitstherapie, auf 10,1 ml/min bzw. 0,2 ml/min/kg an. Über den gesamten Untersuchungszeitraum beträgt die mediane D-Laktat-Clearance 12,4 ml/min bzw. 0,3 ml/min/kg.

Bei Infusionsversuchen von LORENZ et al. (2005) mit 25 g Natrium-D-Laktat

(223,07 mmol) in 100 ml Aqua ad inj. konnte eine D-Laktat-Clearance von 27,5 ml/min gemessen werden, also 2,2-fach so hoch wie in dieser Untersuchung. Die maximal erreichte Serum-D-Laktatkonzentration betrug $12,7 \pm 1,6$ mmol/l. Die höhere Clearance kann dadurch zustande kommen, dass klinisch gesunden Kälbern ohne Durchfall D-Laktat infundiert wurde, daher waren die Kälber nicht dehydriert und dadurch die renale Exkretion nicht beeinträchtigt. Die Kälber in der vorliegenden Untersuchung waren alle, in unterschiedlichen Graden, dehydriert und somit die renale Exkretion zunächst beeinträchtigt, was sich auch durch den signifikanten Anstieg des HMV und der Clearance als Reaktion auf die eingeleitete Infusionstherapie zeigt. Zusätzlich muss davon ausgegangen werden, dass bei den Kälbern in dieser Untersuchung weiterhin in unbekannten Massen D-Laktat im GIT gebildet und resorbiert wurde, auch nach Einleitung der Therapie. In Untersuchungen von ZELLO et al. (2008) zur Ausscheidung von D- und L-Laktat bei Kälbern wurden Kälber mit DL- und L-Laktat in einer Konzentration von 300 mmol/l infundiert. Die D-Laktat-Clearance betrug in dieser Untersuchung $7,4 \pm 3,4$ ml/min. In dieser Studie ist die D-Laktat-Clearance also niedriger als in der vorliegenden Untersuchung. Laut STANGASSINGER u. GIESECKE (1978) scheiden Rinder erst nach Überschreiten eines Blutspiegels von 4,25 mmol/l deutlich zunehmende D-Laktatmassen aus. Bei den 4,25 mmol/l handelt es sich also um eine Schwellenkonzentration, nach Erreichen dieser Konzentration ist die Rückresorptionsrate der Niere überschritten und D-Laktat wird in direkter Korrelation zur Plasmakonzentration ausgeschieden. In der Studie von ZELLO et al. (2008) erreichte die Serum-D-Laktatkonzentration maximal 5,7 mmol/l; es kann also sein, dass durch Unterschreiten der Schwellenkonzentration weniger D-Laktat mit dem Harn ausgeschieden wurde als in der Untersuchung von LORENZ et al. (2005) und der vorliegenden Untersuchung. In der Untersuchung von ZELLO et al. (2008) konnte die L-Laktat-Clearance aufgrund des raschen Metabolismus dieses Isomers nicht berechnet werden. Da zu Untersuchungsbeginn keines der zehn Kälber erhöhte L-Laktatkonzentrationen im Serum aufwies, wurde auf die weitere Bestimmung von L-Laktat im Rahmen dieser Studie verzichtet.

Der Vergleich der Clearance von D-Laktat und Kreatinin zeigt ebenfalls, dass D-Laktat zu einem wesentlich größeren Anteil tubulär rückresorbiert wird als Kreatinin. So ist die mediane D-Laktat-Clearance mit 0,3 ml/min/kg deutlich niedriger als die mediane Kreatinin-Clearance, die $2,4$ ml/min/kg ($2,1 \pm$

0,4 ml/min/kg) beträgt. Der durchschnittliche Wert für die Kreatinin-Clearance liegt in dem Bereich, den REDER (1992) für gering- bis mittelgradig erkrankte Kälber ermittelt hat ($2,33 \pm 0,68$ ml/min/kg).

Auch die Korrelation, die zwischen D-Laktat-Clearance und HMV besteht, zeigt, dass die renale Ausscheidung von D-Laktat stark von der Harnflussrate abhängig ist. Bei Verminderung der Harnflussrate kann es zu einer Steigerung der tubulären Rückresorption von D-Laktat kommen. Dies wiederum führt zur Akkumulation von D-Laktat im Organismus. Durch die Erhöhung der Harnflussrate durch Infusionstherapie wird die renale Ausscheidung von D-Laktat gefördert. Kälbern mit D-Laktatazidose sollte also ausreichend Flüssigkeit zugeführt werden. Dies kann durch Fütterung von Elektrolyttränken zusätzlich zu den Milchtränken erfolgen. Bei Kälbern, die eine deutliche Störung des Allgemeinbefindens aufweisen und nicht in der Lage sind ausreichende Mengen Flüssigkeit in Form von Milch und Elektrolyttränken aufzunehmen, sollte eine DTI durchgeführt werden.

Die mediane Eliminationsfraktion von D-Laktat steigt als Reaktion auf die DTI an und sinkt erst zum Ende der Untersuchung nach 24 Stunden wieder leicht ab. Durchschnittlich beträgt die EF von D-Laktat 12 %, d.h. 88 % des glomerulär filtrierte D-Laktats werden tubulär rückresorbiert. Drei Stunden nach Untersuchungsbeginn werden noch 92 % des tubulär filtrierte D-Laktats rückresorbiert. Dies zeigt wiederum, dass bei Drosselung der Nierendurchblutung die Rückresorption von D-Laktat erhöht ist und es dadurch zu einer Anreicherung im Organismus kommen kann. Als Reaktion auf die eingeleitete Flüssigkeitstherapie steigt die EF-D-Laktat an, es werden nur noch 86 % des filtrierte D-Laktats rückresorbiert. Der Rückgang der EF nach 24 Stunden ist damit zu erklären, dass die Serum-D-Laktatkonzentration zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich noch bei 3,8 mmol/l liegt. Wie bereits erwähnt, liegt die Nierenschwelle von D-Laktat bei einem Blutspiegel von 4,25 mmol/l, erst bei höheren D-Laktatkonzentrationen kommt es zu einem deutlichen Anstieg der Ausscheidung von D-Laktat. Da zu diesem Zeitpunkt die Serum-D-Laktatkonzentration bereits auf 3,8 mmol/l abgesunken ist, können 90% des glomerulär filtrierte D-Laktats rückresorbiert werden. Dies ist auch eine der möglichen Erklärungen für das Absinken der D-Laktat-Clearance nach 24 Stunden. Die tubuläre Rückresorption ist durch einen Anstieg des Harnzeitvolumens vermindert (DIES 1980). Dies erklärt den Anstieg der EF-D-

Laktat nach 6 Stunden, da zu diesem Zeitpunkt eine signifikante Zunahme des Harnvolumens aufgrund der Infusionstherapie erfolgt. Studien zeigten, dass die Rückresorption von Laktat aktiv gegen einen elektrochemischen Gradienten mithilfe eines Natrium-Cotransporters erfolgt (BRAND u. STANSBURY 1980a; BRAND u. STANSBURY 1980b; BRAND u. STANSBURY 1981).

Die D-Laktatbildung im GIT kann durch infektionsbedingte Zottenatrophie mit nachfolgender Maldigestion und Malabsorption von Laktose oder anderer Substrate entstehen, die zu Fehlgärungen im GIT führen (URRIBARRI et al. 1998). Erschwerend kann die bestehende Azidose und Dehydratation als Folge des Durchfalls zur Störung des Schlundrinnenreflexes führen, wodurch wiederum Milch/Milchaustauscher in den Pansen gelangt und dort zu Fehlgärungen und somit Bildung von D-Laktat führt. Hauptverantwortlich für die D-Laktatbildung im Darm sind vermutlich Laktobazillen; es kann in allen Abschnitten des GIT zur Bildung von D-Laktat kommen (URRIBARRI et al. 1998; KÖNIG 2006).

DOLL konnte 1992 bei an Durchfall erkrankten Kälbern im Kot eine durchschnittliche D-Laktatkonzentration von $6,8 \pm 7,2$ mmol/l messen, bei gesunden Kälbern lag die D-Laktatkonzentration im Kot bei $0,4 \pm 1,3$ mmol/l. In Untersuchungen von EWASCHUK et al. (2004) betrug die mediane D-Laktatkonzentration im Kot von an Durchfall erkrankten Kälbern 25,4 mmol/l, bei gesunden Kontrollkälbern konnte eine Konzentration von 9,1 mmol/l D-Laktat gemessen werden. Die relativ niedrigen Werte bei der Untersuchung von DOLL (1992) könnten sich dadurch erklären lassen, dass nur Kälber bis zu einem Alter von höchstens 14 Tagen in die Studie eingeschlossen wurden, das durchschnittliche Alter betrug 8 Tage. Es hat sich gezeigt, dass Kälber unter sieben Tagen deutlich niedrigere D-Laktatkonzentrationen aufweisen als ältere Kälber mit Neugeborenendurchfall (TREFZ 2011). Da die Kälber in der Untersuchung von DOLL (1992) durchschnittlich nur 8 Tage alt waren, kann es sein, dass nur sehr wenige oder keine Kälber mit Hyper-D-Laktatämie in die Studie eingeschlossen wurden. Die Messung der D-Laktatkonzentration im Blut wurde in dieser Untersuchung nicht durchgeführt. Die Kälber in der Studie von EWASCHUK et al. (2004) waren durchschnittlich 17,7 Tage alt, also deutlich älter als in der Untersuchung von DOLL (1992). Die mediane Serum-D-Laktatkonzentration in der Studie von EWASCHUK et al. (2004) bei den

Durchfallkälbern betrug $13,9 \pm 5,1$ mmol/l, zwischen D-Laktatkonzentrationen im Kot und im Blut bestand eine korrelative Beziehung. In weiterführenden Untersuchungen könnte der Unterschied von D-Laktatkonzentrationen im Kot bei Kälbern mit und ohne D-Laktat-Azidose untersucht werden, um festzustellen, ob Kälber mit Durchfall generell höhere D-Laktatkonzentrationen im Kot aufweisen oder nur solche mit Hyper-D-Laktatämie. Bei der hier durchgeführten Untersuchung konnte in der ersten quantitativ gesammelten Kotprobe drei Stunden nach Untersuchungsbeginn im Kotwasser eine mediane D-Laktatkonzentration von 22,9 mmol/l ($21,5 \pm 9,7$ mmol/l) gemessen werden. Dies entspricht in etwa der von EWASCHUK et al. gemessenen Konzentration.

Bei dem im Kotwasser messbaren D-Laktat handelt es sich um D-Laktat, das nicht resorbiert wurde. Die Kot-D-Laktatkonzentration sinkt im Verlauf der vorliegenden Untersuchung um 69 % ab. Es stellt sich die Frage, warum es im Verlauf der Untersuchung zu einem Absinken der Kot-D-Laktatkonzentration kommt.

Die Resorption von D-Laktat im Darm erfolgt zum Großteil über MCT. Die Rate der Resorption von D-Laktat ist einerseits abhängig von der vorherrschenden D-Laktatkonzentration, zum anderen ist sie stark abhängig vom pH-Wert. Die Resorptionsrate sinkt mit Anstieg der Laktatkonzentration. Einen signifikanten Effekt auf die Resorptionsrate hat der pH-Wert, diese ist bei einem pH von 4,3 um ein sechsfaches höher als bei pH 6,3 (DING u. XU 2003).

In der vorliegenden Untersuchung stieg der Kot-pH-Wert innerhalb des Untersuchungszeitraums kontinuierlich an von durchschnittlich 6,3 zu Beginn auf 6,8 zum Ende nach 24 Stunden. Dies spiegelt zwar nicht den pH-Wert im Dünndarm wider, jedoch kann man davon ausgehen, dass im Verlauf mit steigendem pH-Wert im Kot die Resorption von D-Laktat zurückgeht. Darauf deutet auch die Korrelation zwischen Kot-pH und Kot-D-Laktatkonzentration hin. Allerdings sollte bei Verminderung der Resorption mehr D-Laktat im Kot ausgeschieden werden. Da es aber im Verlauf zu einem Absinken der D-Laktatkonzentration im Kotwasser kommt, könnte es sein, dass durch die Veränderung des Milieus im Darm gleichzeitig weniger D-Laktat produziert wird. Laut LORENZ (2006) ist es möglich, dass durch die Steigerung der Produktion von D-Laktat im Darm aufgrund einer Malabsorption von Kohlenhydraten ein

saures Milieu im Darm entsteht, wodurch die Resorption von D-Laktat wiederum verbessert würde (DING u. XU 2003). Zusätzlich wird durch die Resorption von D-Laktat der „Bikarbonat Pool“ aufgebraucht, wodurch weniger Bikarbonat in den Darm sezerniert wird, was wiederum zu einer stärkeren Ansäuerung des Darmmilieus führt (LORENZ 2006). Dies fördert einerseits die Vermehrung laktatbildender Bakterien, andererseits die D-Laktat-Resorption. Durch eine Infusionstherapie mit Bikarbonat kann dieser Kreislauf durch eine Verbesserung der Sekretion von Bikarbonat in den Darm unterbrochen werden. Es käme so zu einer Steigerung des pH im Darm, was eine Verminderung der Produktion und zugleich eine Verminderung der Resorptionsrate von D-Laktat begünstigen würde (DING u. XU 2003). Auch eine mögliche Regeneration der Zotten muss bedacht werden. Diese könnte durch eine verminderte Substratbereitstellung im Dickdarm zu einer Änderung der Rate der Produktion beitragen. In gleicher Weise könnte eine Verbesserung des Allgemeinbefindens dazu beitragen, dass durch Verbesserung des Schlundrinnenreflexes gegebenenfalls die zusätzliche Produktion von Laktat im Pansen beendet wird.

ZELLO et al. (2009) gehen davon aus, dass D-Laktat erst ab einer Schwellenkonzentration von ungefähr 10 mmol/l im Darmlumen von MCT aufgenommen und in Mukosazellen transportiert wird und somit schließlich in die Blutzirkulation gelangt. Bei einem Kalb in dieser Untersuchung liegt die D-Laktatkonzentration im Kotwasser während des gesamten Untersuchungszeitraumes unter der von ZELLO et al. (2009) angegebenen Schwellenkonzentration (durchschnittlich bei 4,8 mmol/l; Maximalwert 7,9 mmol/l), trotzdem war bei diesem Kalb die Konzentration von D-Laktat im Serum erhöht, die Serumkonzentration ist zwischen Untersuchungsbeginn und dem folgenden Probenzeitpunkt nach drei Stunden sogar angestiegen (von 9,1 mmol/l auf 10,6 mmol/l). Es muss also eine Resorption von D-Laktat aus dem Darm stattgefunden haben. Auch die Ergebnisse von DING u. XU (2003), wonach die D-Laktat-Resorption mit steigender D-Laktatkonzentration abnimmt, spricht gegen das Vorliegen einer Schwellenkonzentration von D-Laktat im Darm. Es ist wahrscheinlich, dass die Entstehung einer D-Laktatazidose unabhängig von der Höhe der vorherrschenden D-Laktatkonzentration im Darm ist. Ob es zur Resorption kommt, muss von weiteren Faktoren beeinflusst werden. In der vorliegenden Untersuchung ist die Serum-D-Laktatkonzentration mit der D-

Laktatkonzentration im Kotwasser korreliert, allerdings erst ab 12 Stunden nach Untersuchungsbeginn. Möglicherweise wird vor allem zu Beginn der Untersuchung D-Laktat in viel größeren Mengen gebildet als es resorbiert wird oder resorbiert werden kann, da nach DING u. XU (2003) die Rate der Resorption mit steigender D-Laktatkonzentration sinkt. Erst mit abnehmender D-Laktat Bildung korreliert die Resorptionsrate mit der Serum-D-Laktatkonzentration.

In einer Studie über den Einsatz von Malat zur Vorbeugung einer D-Laktatazidose wurde gesunden Kälbern Malat mit der Milchtränke verabreicht und die D-Laktatkonzentrationen in Blut, Harn und Kot bestimmt (ABEYSEKARA 2009). Keines der Kälber wies zu Beginn der Studie eine erhöhte D-Laktatkonzentration im Serum ($\sim 0,5$ mmol/l) auf. Allerdings waren die D-Laktatkonzentrationen im Kot erhöht. Durch den Einsatz von Malat konnte die Kot-D-Laktatkonzentration von ~ 36 mmol/l auf ~ 11 mmol/l gesenkt werden. Sowohl vor Beginn der Verabreichung von Malat als auch danach liegen die gemessenen Kot-D-Laktatkonzentrationen über der von ZELLO et al. (2009) ermittelten Schwellenkonzentration. Allerdings muss hier zusätzlich beachtet werden, dass die Versuchstiere im Mittel 27 ± 2 Tage alt waren, somit älter als Kälber mit Neugeborenendurchfall per Definition sind (≤ 21 Tage; (DOLL 2006)). Außerdem haben die Kälber zusätzlich zur Milchtränke bereits Heu gefressen. Es stellt sich die Frage, ob ältere gesunde Kälber D-Laktat so rasch ausscheiden und metabolisieren, dass im Blut keine Erhöhung der D-Laktatkonzentration festgestellt werden kann. Es wäre möglich, dass es bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall durch die Zottenatrophie und/oder der Verminderung der Sekretion von Bikarbonat in das Darmlumen aufgrund von Azidose zu einer solchen Änderung des Darmmilieus kommt, dass die Produktion und vor allem Resorption von D-Laktat gefördert wird. In der hier vorliegenden Studie konnte der Einfluss von möglichen weiteren Faktoren auf die Resorption von D-Laktat nicht untersucht werden. Mit weiterführenden Untersuchungen könnte geklärt werden, ob es Unterschiede in den Kot-D-Laktatkonzentration zwischen an Neugeborenendurchfall erkrankten Kälbern ohne und mit D-Laktatazidose gibt. Außerdem könnte untersucht werden, ob es zwischen Kälbern verschiedener Altersstufen und unterschiedlichen Fütterungs- und Haltungsbedingungen Unterschiede in den Kot-D-Laktatkonzentrationen gibt. Interessant wäre auch herauszufinden, ob bestimmte Durchfallerreger zu höheren Kot-D-Laktatkonzentrationen führen. Somit könnte geklärt werden, ob es bestimmte

Faktoren gibt, die zu einer vermehrten Resorption von D-Laktat aus dem GIT führen.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass es innerhalb der drei Stunden zwischen den verschiedenen Probenzeitpunkten zu einer Vergärung des Kotes in dem Sammelbehälter gekommen ist. Allerdings wurden die Kotproben sofort gekühlt und mit 5 %iger Gentamicinlösung (20 mg/100 g Kot) versetzt, um ein übermäßiges Bakterienwachstum zu verhindern. Außerdem muss darauf hingewiesen werden, dass es im Verlauf zu einem Anstieg des Kot-pH-Wertes kommt und daher die Wahrscheinlichkeit einer aufgetretenen Gärung als gering betrachtet wird.

Bei Betrachtung der übrigen Blutparameter fiel auf, dass es im Verlauf zwar zu einem kontinuierlichen, leicht exponentiellen Abfall der Kreatinin- und Harnstoffkonzentration kommt. Nach 24 Stunden lag die Kreatininkonzentration im Serum bei acht Kälbern wieder im Referenzbereich (Kalb 1 und Kalb 6 haben noch erhöhte Serum-Kreatininkonzentrationen). Die Harnstoffkonzentration lag nach 24 Stunden erst bei zwei Kälbern wieder innerhalb des Referenzbereiches. Dies lässt sich vermutlich durch die Unterschiede in der Elimination beider Substanzen über die Nieren erklären. Während Kreatinin fast ausschließlich durch glomeruläre Filtration ausgeschieden wird, zum Teil jedoch auch in einem gewissen Umfang tubulär sezerniert werden kann, wird Harnstoff renal vollständig filtriert. Allerdings diffundiert Harnstoff zum Teil wieder aus dem Primärharn ins Niereninterstitium und trägt dort zur Gegenstromkonzentrierung des Harns bei (GÄBEL u. FROMM 2005). Diese Unterschiede werden besonders bei einer geringen Harnflussrate infolge einer Minderperfusion der Nieren deutlich. Die Kreatinin-Clearance steigt bis neun Stunden nach Untersuchungsbeginn an und bleibt dann auf einem relativ konstanten Niveau. Kalb 6 hat nach 24 Stunden sowohl eine erhöhte Kreatinin- als auch Harnstoffkonzentration im Serum. 15 Stunden nach Untersuchungsbeginn steigt bei diesem Kalb der Hkt trotz DTI wieder an und liegt nach 24 Stunden bei 43 %. Es kann bei diesem Kalb infolge der Dehydrierung zu einer Verringerung der GFR gekommen sein, wodurch weniger Kreatinin und auch Harnstoff ausgeschieden wurde. Kalb 1 weist nach 24 Stunden noch die höchsten Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen auf. Es ist zwar klinisch nicht ausgetrocknet, aber

trotzdem ist bei diesem Kalb davon auszugehen, dass es zu einer Verminderung der GFR infolge einer noch bestehenden Dehydrierung gekommen ist. Da die Harnstoffkonzentration nur bei zwei Kälbern wieder im Referenzbereich liegt, muss hier auch an eine Harnstoffkonzentration infolge einer katabolen Stoffwechsellaage gedacht werden.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Nina Reischer (2012)

Dynamik der Serumkonzentration und Ausscheidung von D-Laktat bei jungen Kälbern mit Durchfall

Bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall stellt die D-Laktatazidose eine häufige Komplikation dar. Erst seit einigen Jahren ist bekannt, dass D-Laktat auch bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall für Symptome wie zentrale Dämpfung, deutliche Störung des Allgemeinbefindens und Verzögerung des Ansprechens auf Therapiemaßnahmen verantwortlich ist. Diese Symptome wurden bis dahin der metabolischen Azidose zugesprochen. Da Säugetieren eine spezifische D-Laktat-Dehydrogenase fehlt, wird D-Laktat wesentlich langsamer metabolisiert als L-Laktat. In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, wie die Eliminierung von D-Laktat bei an Neugeborenendurchfall erkrankten Kälbern mit bestehender D-Laktatazidose verläuft. Dabei sollte auch ein Beitrag zur Klärung der Frage geleistet werden, warum die D-Laktatkonzentration im Blut nach erfolgter Azidosekorrektur sinkt, obwohl der Durchfall anhält.

In die Studie wurden zehn Kälber in einem Alter von sieben bis 21 Tagen aufgenommen, die zwischen November 2009 und Januar 2011 wegen Neugeborenendurchfall in die Klinik für Wiederkäuer der LMU München überwiesen wurden. Die Kälber mussten zum Zeitpunkt der Einlieferung eine Blutazidose mit einem Basendefizit von ≤ 9 mmol/l und klinische Anzeichen einer D-Laktatazidose aufweisen.

Der Untersuchungszeitraum wurde auf 24 Stunden festgelegt. Die Kälber erhielten eine standardisierte Infusionstherapie, um die bestehende Azidose möglichst rasch und dauerhaft auszugleichen. Innerhalb der ersten zwei Stunden nach Untersuchungsbeginn erhielten alle Probanden eine Infusion mit Natriumbikarbonat. Die benötigte Masse Natriumbikarbonat wurde anhand der Formel *„Körpergewicht (kg) * Basenexzess * 0,8“* berechnet. Die jeweils errechnete Masse wurde in einem Volumen von 2 Litern Flüssigkeit verabreicht,

gefolgt von einer Dauertropfinfusion je nach Dehydratationsgrad des Tieres. Harn und Kot wurden von jedem Tier über den Untersuchungszeitraum von 24 Stunden quantitativ gesammelt; in regelmäßigen Abständen von drei Stunden wurde zusätzlich das Harnvolumen bzw. die Kotmasse bestimmt, sowie Blutproben entnommen. In allen Proben wurden die D-Laktatkonzentrationen bestimmt.

Anhand des Verlaufes der D-Laktatkonzentration im Serum zeigte sich, dass trotz eingeleiteter Therapie weiterhin D-Laktat im Gastrointestinaltrakt produziert und resorbiert wurde, was zu Beginn des Untersuchungszeitraumes einen Anstieg der D-Laktatkonzentration im Serum zur Folge hatte. Im Verlauf der Untersuchung sank die D-Laktatkonzentration im Serum jedoch bei allen Probanden ab. Weiterhin konnte ein Absinken der D-Laktatkonzentration im Kot und ein Anstieg des Kot-pH-Wertes beobachten werden. Die Halbwertszeit von D-Laktat korrelierte mit der D-Laktatkonzentration zu Versuchsbeginn und betrug durchschnittlich 18 Stunden (Min-Max 12-27 h $\pm$ 6 h [SD]). Ob die Halbwertszeit durch weitere Faktoren beeinflusst wird, konnte in dieser Untersuchung nicht abschließend geklärt werden.

Bei Kälbern mit D-Laktatazidose kann durch ausreichende Flüssigkeitszufuhr eine Steigerung der Harnflussrate und somit eine Steigerung der renalen Ausscheidung von D-Laktat erzielt werden. Eine Akkumulation von D-Laktat im Organismus infolge einer Vermehrung der tubulären Rückresorption von D-Laktat wird somit unterbunden. Mit der vorliegenden Arbeit konnte entscheidend zur Klärung der Dynamik und des Verlaufes der Ausscheidung von D-Laktat bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall beigetragen werden.

VII SUMMARY

Nina Reischer (2012)

D-lactate serum concentration dynamics and excretion in calves with neonatal diarrhoea

D-lactic acidosis is a common complication in calves with neonatal diarrhoea. Only recently did researchers show that D-lactatemia in bovine neonates leads to symptoms like depression, deterioration of the general condition and a delay in response to therapeutic measures. Prior to that, clinical symptoms were attributed to the commonly occurring metabolic acidosis in these patients. Mammals lack the specific enzyme D-lactate-dehydrogenase which is responsible for the rapid metabolization of D-lactate. The objective of the study was to shed light on the principles of elimination of D-lactate in calves with neonatal diarrhoea. Another aim of the investigation was to investigate the reasons for the fact that D-lactate concentrations in the blood of calves can decrease after correction of the metabolic acidosis although they continue to suffer from diarrhoea.

Ten calves between the age of seven to 21 days suffering from diarrhoea were enrolled in the study between November 2009 and January 2011. In order to be eligible for the study, the animals had to have a base excess of ≥ -9 mmol/l on initial blood work and show clinical symptoms of D-lactatemia.

The study period was set to be 24 hours. All calves received a standardized infusion therapy aimed at correcting the metabolic acidosis rapidly and long-lasting. During the first two hours after enrollment, each animal received an infusion with sodium bicarbonate. The necessary amount of bicarbonate was calculated applying the following formula:

$$\text{body weight (kg)} * [\text{base excess}] * 0,8$$

The resulting amount was administered in a total volume of two liters intravenously. Depending on the degree of dehydration, a continuous drip infusion was given subsequently. Urine and feces were collected quantitatively from each calf during the 24-hour period; every three hours the urine volume and the weight of the excreted feces were determined and blood samples were taken. The

concentration of D-lactate was determined in all samples.

The results of the analysis included the fact that the concentration of D-lactate in serum increased initially after the institution of infusion therapy and correction of the metabolic acidosis, indicating a continuing production of D-lactate in the gastrointestinal tract as well as an ongoing absorption of this metabolite into the bloodstream. However, at the end of the study period the concentration of D-lactate had decreased in the serum of all animals. Also, the concentration of D-lactate decreased in the feces and the fecal pH increased during the 24-hour period. The half life of D-lactate correlated well with serum concentrations at the beginning of the sample period and was 18 hours on average (min-max 12-27 h $\pm$ 6 h [SD]). Unfortunately, the magnitude of other factors possibly influencing D-lactate half life in the individual animal could not be determined with the present study. Intravenous and oral fluid therapy were helpful in increasing uroflow, thereby increasing the renal excretion of D-lactate in the study group. The underlying mechanism seems to be the inhibition of tubular reabsorption and the prevention of accumulation of the metabolite in the body. This thesis was able to shed light on the serum concentration dynamics and the principles of excretion of D-lactate in calves with neonatal diarrhea.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

Abeysekara, S., J. M. Naylor, A. W. Wassef, U. Isak u. G. A. Zello (2007).

D-Lactic acid-induced neurotoxicity in a calf model.

Am J Physiol Endocrinol Metab 293(2): E558-565.

Abeysekara, S. (2009).

D-Lactic Acid Metabolism and Control of Acidosis. Division of Nutrition and Dietetics, College of Pharmacy and Nutrition University of Saskatchewan. Postgraduate Thesis.

Berg, J. M., T. J.L. u. S. L. (2003).

Biochemie. Spektrum, Akademischer Verlag.

Beyer, H. u. W. Walter (1998).

Lehrbuch der organischen Chemie. S. Hirzel Verlag Stuttgart.

Brand, P. H. u. R. Stansbury (1980a).

Peritubular uptake of lactate by Thamnophis proximal tubule.

Am J Physiol 238(4): F296-304.

Brand, P. H. u. R. S. Stansbury (1980b).

Lactate absorption in Thamnophis proximal tubule: transport versus metabolism.

Am J Physiol 238(3): F218-228.

Brand, P. H. u. R. S. Stansbury (1981).

Lactate transport by Thamnophis proximal tubule: sodium dependence.

Am J Physiol 240(5): F388-394.

Cohen, J. J. u. J. P. Kassirer (1982).

III. Clinical Derangements, Lactic Acidosis. Acid/Base. Little, Brown and Company [Inc.]: 140-149.

Commack, R. (1969).

Assay, purification and properties of mammalian d-2-hydroxy acid dehydrogenase.

Biochem J 115: 55-64.

Dies, F. (1980).

Renal tubular lactate reabsorption in dogs. Competition between stereoisomers.

Rev Invest Clin 32(4): 415-421.

Ding, Z. u. Y. Xu (2003).

Lactic acid is absorbed from the small intestine of sheep.

J Exp Zoolog A Comp Exp Biol 295(1): 29-36.

Dirksen, G. u. T. Baur (1991).

Pansenazidose beim Milchkalb infolge Zwangsfütterung.

Tierärztl. Umschau 46: 257-261.

Dirr, L. u. G. Dirksen (1989).

Dysfunktion der Schlundrinne ("Pansentrinken") als Komplikation der Neugeborenenendiarrhoe beim Kalb.

Tierärztl. Praxis 17: 353-358.

Doll, K. (1991).

Gewinnung von Kotwasser beim Kalb: Dialyse im Vergleich zur Filtration.

Tierärztl. Praxis 19: 353-355.

Doll, K. (1992).

Untersuchungen über die Bedeutung unspezifischer Faktoren in der Pathogenese der Diarrhoe beim Kalb. Medizinische Tierklinik (Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere) der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Habilitationsschrift.

Doll, K. (2006).

Neugeborenenendiarrhoe. In: Dirksen, G., H.-D. Gründer, M. Stöber (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart, S. 561-572. 5. Auflage.

Enerson, B. E. u. L. R. Drewes (2003).

Molecular features, regulation, and function of monocarboxylate transporters: implications for drug delivery.

J Pharm Sci 92(8): 1531-1544.

Ewaschuk, J. B., J. M. Naylor u. G. A. Zello (2003).

Anion gap correlates with serum D-lactate and DL-lactate concentration in diarrheic neonatal calves.

J. Vet. Int. Med. 17: 940-942.

Ewaschuk, J. B., J. M. Naylor, R. Palmer, S. J. Whiting u. G. A. Zello (2004).

D-lactate production and excretion in diarrheic calves.

J Vet Intern Med 18(5): 744-747.

Flick, M.J., S.F. Konieczny (2002).

Identification of putative mammalian D-lactate dehydrogenase enzymes.

Biochem. Biophys. Res. Communications 295, 910-916.

Gäbel, G. u. M. Fromm (2005).

Niere In: von Engelhardt W., G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart, S. 277-295. 2. Auflage.

Gauchel, F. (2012).

Untersuchungen zur Dynamik des Flüssigkeits- und Kreatininhaushalts bei jungen Kälbern mit Diarrhoe. Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dissertation.

Gentile, A., G. Rademacher, G. Seemann u. W. Klee (1998).

Systemische Auswirkungen der Pansenazidose im Gefolge von Pansentrinken beim Milchkalb. Retrospektive Analyse von 293 Fällen.

Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 26(4): 205-209.

Gentile, A., S. Sconza, I. Lorenz, G. Otranto, G. Rademacher, P. Famigli-Bergamini u. W. Klee (2004).

D-Lactic acidosis in calves as a consequence of experimentally induced ruminal acidosis.

J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 51(2): 64-70.

Gentile, A., I. Lorenz, S. Sconza u. W. Klee (2008).

Experimentally induced systemic hyperchloremic acidosis in calves.

J Vet Intern Med 22(1): 190-195.

Giesecke, D. u. M. Stangassinger (1978).

Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose; 5. Kinetik der Elimination von D(-)Milchsäure aus dem Blut.

Zbl. Vet. Med. A, 25

327-337.

Giesecke, D. u. M. Stangassinger (1979).

Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose; 7. Oxydationsrate und quantitative Gluconeogenese aus D-Laktat-(¹⁴C) bei Ziegen.

Zbl. Vet. Med. A 26(2): 85-94.

Grove-White, D. H. (1996).

Pathophysiology and treatment of metabolic acidosis in the diarrhoeic calf.

Proceedings of the XIX World Buiatrics Congress, S. 102-107.

Grude, T. (2003).

Konzentration von L- und D- Laktat im Blut, Harn und Pansensaft von Kälbern, insbesondere "Pansentrinkern".

Tierärztliche Praxis 31((G)): 72-77.

Haase, G. (2006).

Vergleich unterschiedlicher Strategien bei der Azidosetherapie von Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. Klinik für Wiederkäuer (Lehrstuhl Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer: Prof. Dr. W. Klee) der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dissertation.

Halperin, M. u. K. Kamel (1996).

D-Lactic acidosis: turning sugar into acids in the gastrointestinal tract.
Kidney Int 49: 1-8.

Hänichen, T., L. Betinelli, G. Dirksen u. W. Hermanns (1992).

Hyperkeratose und Entzündung der Vormagenschleimhaut von jungen Milchkälbern nach "Pansentrinken".
Tierärztl. Umschau 47: 623-627.

Kalapsos, M. P. (1999).

Methylglyoxal in living organisms. Chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications.
Toxicol. Lett. 110: 145-175.

Kasari, T. R. u. J. M. Naylor (1986).

Further studies on the clinical features and clinicopathological findings of a syndrome of metabolic acidosis with minimal dehydration in neonatal calves.
Can J Vet Res 50(4): 502-508.

Kaske, M. (1994).

Pathophysiologische Aspekte der neonatalen Kälberdiarrhoe.
Tierärztl. Umschau 49: 336-348.

König, M. (2006).

Untersuchung zur Bildung von D-Laktat im Intestinum des Kalbes. Klinik für Wiederkäuer (Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie des Rindes: Prof. Dr. W. Klee). München, Ludwig- Maximilians- Universität. Dissertation.

Lorenz, I. (2004a).

Influence of D-lactate on metabolic acidosis and on prognosis in neonatal calves with diarrhoea.

J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 51(9-10): 425-428.

Lorenz, I. (2004b).

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

Vet J 168(3): 323-327.

Lorenz, I. (2006).

D-lactic acidosis in neonatal calf diarrhoea.

Medizinische Tierklinik, Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer. Ludwig-Maximilians-Universität München. Habilitationsschrift.

Lorenz, I. (2009).

An update on calf diarrhoea. Part I: Pathophysiology and treatment.

Irish Veterinary Journal 62, 58-61.

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

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

Comp. Clin. Path. 12: 169-171.

Lorenz, I., A. Gentile u. W. Klee (2005).

Investigations of D-lactate metabolism and the clinical signs of D-lactataemia in calves.

Vet Rec 156(13): 412-415.

Naylor, J. M. (1987).

Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age.

Can Vet J 28(4): 168-173.

Oh, M. S., J. Uribarri, D. Alveranga, I. Lazar, N. Bazilinski u. H. J. Carroll (1985).

Metabolic utilization and renal handling of D-lactate in men.

Metabolism 34(7): 621-625.

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

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

J Nutr 131(8): 2128-2131.

Preston, A. M. u. C. H. Noller (1973).

Metabolism of D-lactate by tissues of the ruminant digestive tract.

J Anim Sci 37(6): 1403-1407.

Rademacher, G., N. Korn u. A. Friedrich (2003).

Der Pansentrinker als Patient in der Praxis.

Tierärztl. Umschau 58: 115-125.

Reder, S. (1992).

Beziehung zwischen extrazellulärem Flüssigkeitsvolumen und Nierenfunktion bei durchfallkranken Kälbern. HU Berlin, Fachber. Veterinärmed., Dissertation

Roggenhofer, C. (2004).

Untersuchungen zur Thiaminversorgung bei jungen Kälbern mit Durchfall. Klinik für Wiederkäuer. München, Ludwig- Maximilians- Universität. Dissertation.

Scheele, C. Ed. (1782).

The collected papers of Carl Willhelm Scheele, 1931 ed. G.Bell. London, UK.

Schelcher, F., S. Macillaud, J.-P. Braun, M. Contrepolis, J. F. Valarcher u. H. Navetat (1998).

Metabolic acidosis without dehydration and no or minimal diarrhea in suckler calves is caused by hyper D-lactatemia.

Proc. XX World Buiatrics Congress: 371-374.

Stangassinger, M. (1977).

Die Stoffwechselkinetik von D(-) Milchsäure bei Wiederkäuern, Ludwig-Maximilians-Universität. Vet.med.Diss.

Stangassinger, M. u. D. Giesecke (1978).

Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose; 6. Renale Ausscheidung von Milchsäure-Isomeren.

Zbl. Vet. Med. A, 25: 597-607.

Stöber, M. u. H.-D. Gründer (1990).

Kreislauf. In. Die klinischen Untersuchung des Rindes.

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

Berlin, Hamburg, Paul Parey Verlag, S. 215-219. 3. Auflage.

Tamai, I., H. Takanaga, H. Maeda, Y. Sai, T. Ogihara, H. Higashida u. A. Tsuji (1995).

Participation of a proton-cotransporter, MCT1, in the intestinal transport of monocarboxylic acids.

Biochem Biophys Res Commun 214(2): 482-489.

Thornalley, P. J. (1990).

The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life.

Biochem J 269(1): 1-11.

Trefz, F. M. (2011).

Erstellung und Validierung eines Entscheidungsbaumes zur praxisnahen Behandlung von Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dissertation.

Tubbs, P. K. (1965).

The metabolism of D-alpha-hydroxy acids in animal tissues.

Ann N Y Acad Sci 119(3): 920-926.

Uribarri, J., M. S. Oh, H. J. Carroll (1998).

D-lactic acidosis – a review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms.

Medicine 77, 73-82

Vogt, S.K. (2004).

Untersuchungen zum Einfluss des D-Laktatblutspiegels auf Azidose, Körperhaltung und Verhalten bei Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. Klinik für Wiederkäuer. München, Ludwig- Maximilians- Universität. Dissertation.

Zello, G. A., A. Janzen, S. Abeysekara, D. Hamilton, J. M. Naylor u. K. L. Lohmann (2008).

Urinary excretion of both D- and L-lactate using a calf-infusion model.

FASEB J. 22(1_MeetingAbstracts): 1205.1205-.

Zello, G. A., S. Abeysekara, J. B. Ewaschuk, J. Alcorn, J. M. Naylor u. K. L. Lohmann (2009).

The determination of a fecal D-lactate threshold in neonatal ruminants with diarrhea.

FASEB J. 23(1_MeetingAbstracts): 919.915-.

IX ANHANG

1 Verschiedene Blutparameter

Die Referenzbereiche der Laborparameter wurden in Anlehnung an STÖBER u. GRÜNDER (1990) von der Klinik für Wiederkäuer übernommen.

Tabelle 15: Serum-D-Laktatkonzentration (mmol/l) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Probenuntersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-ab-weichung	Median	Maximum	Minimum
Serum-D-Laktat-konzentration (mmol/l) Referenzbereich $\leq 3,96$ mmol/l (LORENZ et al. 2003)	0h	10,8	1,8	10,7	13,5	8,8
	3h	11,6	1,9	12,0	13,6	7,6
	6h	10,1	2,1	10,5	13,2	6,6
	9h	8,7	2,2	8,9	12,0	5,4
	12	7,8	1,8	7,6	10,1	5,0
	15h	7,0	1,8	6,2	9,4	4,6
	18h	6,2	1,9	5,4	9,0	4,1
	21h	5,2	2,0	4,5	8,3	2,4
	24h	4,7	1,7	3,8	7,2	2,9

Tabelle 16: BE (mmol/l) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
BE (mmol/l) Referenzbereich -2,5 bis 2,5 mmol/l	0h	-20,2	5,9	-21,9	-8,5	-25,5
	3h	4,3	4,0	4,7	12,2	-2,0
	6h	3,7	2,4	4,1	7,0	0,3
	9h	4,5	3,5	4,9	9,1	-1,3
	12	5,6	2,7	5,6	9,4	1,1
	15h	5,0	3,9	5,6	10,7	-0,3
	18h	5,8	3,6	5,1	11,5	0,6
	21h	6,5	2,9	6,5	11,4	0,6
	24h	6,6	3,2	6,2	10,9	1,3

Tabelle 17: AL (meq/l) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Maximum	Minimum
AL (meq/l) Referenzbereich 14- 26 meq/l	0h	30,2	5,8	31,0	39,3	20,8
	3h	25,1	7,5	23,7	37,4	12,1
	6h	21,6	5,3	21,9	30,4	9,9
	9h	18,4	4,8	19,2	23,2	6,2
	12	16,6	4,5	17,5	21,7	7,2
	15h	15,7	4,6	16,8	22,2	7,9
	18h	14,3	4,8	15,7	22,7	7,6
	21h	10,8	4,3	11,6	16,5	3,8
	24h	12,1	3,6	11,5	16,5	7,0

Tabelle 18: Serum-Kreatininkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Maximum	Minimum
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$) Referenzbereich $\leq 110 \mu\text{mol/l}$	0h	275,0	232,5	176,3	701,4	76,3
	3h	242,2	197,8	155,1	636,2	73,9
	6h	218,8	183,5	135,1	626,5	72,1
	9h	181,9	138,5	128,1	484,8	61,4
	12	159,6	118,2	109,5	413,5	63,8
	15h	135,6	96,4	95,0	337,7	46,6
	18h	119,7	74,9	85,9	278,1	51,6
	21h	107,4	63,9	77,2	245,4	48,7
	24h	94,7	51,3	69,8	203,0	46,7

Tabelle 19: Serum-Harnstoffkonzentration (mmol/l) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
Harnstoff (mmol/l) Referenzbereich $\leq 5,5$ mmol/l	0h	20,9	11,7	20,9	38,0	5,9
	3h	30,4	33,8	18,6	12,5	4,3
	6h	18,3	10,8	16,8	37,7	3,9
	9h	16,0	9,4	14,9	31,6	3,3
	12h	14,0	8,0	12,1	28,5	2,9
	15h	12,5	6,6	10,8	25,1	4,1
	18h	11,1	5,8	9,9	22,3	2,8
	21h	9,9	5,1	8,6	20,7	2,4
	24h	8,5	4,6	7,6	18,4	1,8

Tabelle 20: Gesamteiweißkonzentration (g/l) im Serum der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
Gesamteiweiß (g/l) Referenzbereich 60- 80 g/l	0h	62,2	8,7	60,9	74,6	45,9
	3h	48,2	4,0	48,1	53,8	42,9
	6h	48,2	4,5	47,6	53,9	42,0
	9h	46,1	4,2	46,5	51,1	38,9
	12h	46,4	3,4	46,8	50,7	40,6
	15h	47,1	3,5	47,0	53,5	42,1
	18h	47,2	3,2	47,1	51,0	41,0
	21h	46,8	4,0	47,0	51,2	41,2
	24h	47,0	3,1	47,4	50,6	41,8

Tabelle 21: Albuminkonzentration (g/l) im Serum der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Maximum	Minimum
Albumin (g/l) Referenzbereich 30- 40 g/l	0h	30,5	3,8	29,25	36,3	26,2
	3h	24,5	1,1	24,25	26,8	23,2
	6h	24,7	1,9	24,2	29,0	22,7
	9h	23,8	1,9	23,7	26,9	20,7
	12h	25,8	5,4	24,05	40,6	22,2
	15h	24,1	1,4	23,6	26,5	22,2
	18h	24,4	1,9	24	27,1	22,1
	21h	24,2	1,4	23,85	26,6	22,5
	24h	23,9	1,5	23,75	26,7	22,1

Tabelle 22: Hämatokrit (%) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Maximum	Minimum
Hämatokrit (%) Referenzbereich 30 - 36%	0h	41,9	8,3	42,0	55,0	27,0
	3h	34,2	6,8	32,5	46,0	24,0
	6h	33,5	6,0	32,5	43,0	26,0
	9h	32,1	5,8	31,0	42,0	25,0
	12h	32,0	4,9	33,0	39,0	25,0
	15h	32,1	5,5	32,5	42,0	24,0
	18h	32,4	4,9	32,0	41,0	26,0
	21h	31,8	5,0	31,5	41,0	24,0
	24h	31,9	5,4	32,0	43,0	24,0

2 D-Laktatkonzentration im Harn

Tabelle 23: Harn-D-Laktatkonzentration (mmol/l) der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
Harn-D-Laktat-konzentration (mmol/l)	0h	15,7	22,1	5,0	62,9	1,42
	3h	31,9	15,7	32,8	52,8	2,82
	6h	37,6	18,4	37,0	70,4	4,66
	9h	28,7	9,7	29,5	43,1	7,17
	12	30,4	10,6	29,9	50,4	7,59
	15h	32,4	12,9	32,9	55,1	8,38
	18h	32,8	15,7	29,0	56,1	7,91
	21h	24,0	15,7	20,7	62,1	5,47
	24h	14,5	8,7	14,8	30,3	0,61

3 D-Laktatkonzentration im Kotwasser

Tabelle 24: Kotwasser-D-Laktatkonzentrationen der zehn Probanden zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten (h)

Parameter	Proben-zeitpunkt	Mittel-wert	Standard-abweichung	Median	Maximum	Minimum
Kotwasser-D-Laktat-konzentration (mmol/l)	0h	15,3	12,4	14,7	35,4	0,1
	3h	21,5	9,7	22,9	42,9	6,6
	6h	20,6	8,8	19,1	45,4	7,9
	9h	16,0	8,8	13,5	27,4	6,8
	12	16,2	17,3	11,4	54,3	2,7
	15h	13,3	8,1	13,1	26,3	4,2
	18h	13,5	8,5	10,5	26,5	0,6
	21h	12,9	11,1	9,4	32,8	3,3
	24h	8,8	7,0	7,1	23,2	1,4

X DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. W. Klee für die Überlassung des Themas, die Betreuung der Arbeit und den zügigen und wertvollen Korrekturen danken. Aber vor allem danke ich ihm für seine Geduld und sein Verständnis.

Frau Dr. Dr. habil. Ingrid Lorenz danke ich für die Betreuung und die hilfreichen Anmerkungen und Korrekturen.

Frau Dr. Carola Sauter-Louis bin ich zu großem Dank verpflichtet, dafür, dass sie bei Fragen und Sorgen immer und zu jeder Zeit Ratschläge und Antworten parat hatte.

Frau I. Hartmann, Frau M. Altmann und Frau C. Beyer danke ich besonders herzlich für die Bearbeitung der großen Mengen an Proben.

Desweiteren danke ich allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Klinik, die mich während meiner Doktorarbeit unterstützt haben, vor allem bei denen die im Lauf der Zeit zu Freunden geworden sind:

Sabine und Matthias danke ich ganz besonders dafür, dass sie jeden Tag versucht haben mir etwas Neues beizubringen und insbesondere dafür, dass ihr wohl mehr an mich und meine Fähigkeiten glaubt als ich selbst!

Britta danke ich für die gemeinsam überstandene Zeit im Büro, den sehr besonderen Ausfahrten und dass sie mir immer einen anderen Blickwinkel geboten hat, um Dinge zu betrachten.

Meinen Mitdoktoranden und Mitdoktorandinnen der Klinik möchte ich für die Unterstützung und die lustigen Stunden danken. Sandra danke ich ganz besonders für die gemeinsame Zeit, für die lustigen und schönen Stunden, aber vor allem dafür, dass sie mir in allen Lebenslagen als verlässliche Freundin zur Seite steht. Ganz herzlich möchte ich auch Chrissy für die große Hilfe bei der Durchführung der praktischen Versuche danken und Maria, für das stundenlange Bewachen eines Kalbes! Julia danke ich für ihre Art Probleme anzupacken und aus der Welt

zu schaffen, mich zu motivieren und einfach für die schöne gemeinsame Zeit.

Für ihre Freundschaft und ihre Unterstützung bin ich Wibke, Barbara, Susi und Basti sehr dankbar. Ich danke euch, dass ihr in jeder Lebenslage für mich da seid! Ich bin sehr froh dass es euch gibt!

Meiner Familie danke ich von ganzem Herzen, besonders meiner Mutter, die mir gezeigt hat, dass man mit Einsatz, großer Hingabe, einem starken Willen und Liebe alles erreichen kann. Ich danke ihr, dass sie mir, trotz einem teilweise sehr steinigen Weg, immer alles ermöglicht hat, dass sie immer für mich da ist und immer an mich glaubt. Du bist die beste Mama die es gibt! Hans danke ich von Herzen für seine stets selbstverständliche und selbstlose Unterstützung und nicht zuletzt dafür, dass er so stolz auf mich ist, wie es nur ein Vater sein kann. Oma und Opa danke ich aus tiefsten Herzen dafür, dass sie immer für mich da sind, stets ein offenes Ohr für meine Sorgen und Probleme haben und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stehen. Man kann keine besseren Großeltern als euch haben!

Tobi danke ich von ganzem Herzen für seine großartige Unterstützung, seine Liebe und seine Freundschaft. Auf dich kann ich mich in allen Lebenslagen verlassen. Solange du bei mir bist, wird doch immer wieder alles gut!