

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

Retrospektive Untersuchung der Erythrozyten-Glutathionperoxidase-Aktivitäten  
von Rinder-Patienten der Klinik für Wiederkäuer

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

von  
Doris Wittmeier  
aus Augsburg

München 2008



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

Retrospektive Untersuchung der Erythrozyten-Glutathionperoxidase-Aktivitäten  
von Rinder-Patienten der Klinik für Wiederkäuer

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

von  
Doris Wittmeier  
aus Augsburg

München 2008

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Klee
Korreferentin:	Dr. Sabine André

Tag der Promotion: 8. Februar 2008

Für meine Eltern Xaver und Gerda

und meine beiden Geschwister Sebastian und Carolin



# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis:	II
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Geschichte des Selens	2
2.2 Selenoproteine	2
2.2.1 Selenhaltige Glutathionperoxidasen (Se-GSHPx)	3
2.2.2 Die Thioredoxinreduktase (TrxR)	6
2.2.3 Die Jodthyronin-5'-Dejodinasen (Schilddrüsenhormondejodinasen) (ID-I, ID-II, ID-III)	6
2.2.4 Selenoprotein P (Se-P)	7
2.2.5 Selenoprotein W (Se-W)	7
2.2.6 Selenphosphatsynthetase	7
2.3 Selenkonzentration und GSHPx-Aktivitäten	8
2.4 Selenmangelkrankheiten	9
2.4.1 Die Nutritive Myodegeneration (Weißmuskelkrankheit) des juvenilen Rindes	9
2.4.2 Die Überlastungsmypathie des ruminierenden Rindes	12
2.5 Die Exkretion von Selen aus dem Körper	14
2.6 Wechselwirkungen zwischen Selen und anderen Substanzen	15
2.7 Selen und Stress	15
2.8 Selen und Infektionsabwehr	15
2.9 Selen und Reproduktion	16
2.9.1 Selen und weibliche Reproduktion	16
2.9.2 Selentransfer über Plazenta und Milch auf den Nachwuchs und Kälberentwicklung	17
2.9.3 Der Einfluss von Selen auf die Eutergesundheit und Milchleistung	17
2.9.4 Der Einfluss von Selen auf die männliche Reproduktion	18
2.10 Selenmangelprävention und Optimierung der Fütterung	18
2.11 Selen und Boden	20
3 Eigene Untersuchungen	24
3.1 Material und Methoden	24
3.1.1 Das eGSHPx-Testverfahren	24
3.1.2 Datenaufbereitung	26
3.1.3 Auswertung der EDV-Daten bezüglich Korrelationen, Alter, zeitlichem Verlauf	26
3.1.4 Geographische Darstellung der Mediane	27
3.1.5 Retrospektive Auswertung der klinischen Eingangsbefunde und Sektionsbefunde von Tieren mit wahrscheinlich sekundärem Selenmangel	28
3.1.6 Kodierung der Befunde bei Kälbern unter 100 Tagen	30
3.1.7 Kodierung der Befunde bei den Tieren ab 100 Tagen	32
3.2 Ergebnisse	35
4 Diskussion	51
5 Zusammenfassung	57
6 Summary	59
7 Literaturverzeichnis	61
8 Lebenslauf	68
9 Danksagung	69

**Abkürzungsverzeichnis:**

AP	Alkalische Phosphatase
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATBARS	ascorbat-induced thiobarbituric acid-reactive substances
CLA	konjugierte Linolsäure
CK	Kreatinkinase
COX	Zyklooxygenase
cRNA	copy ribonucleic acid
eEF <sub>Sec</sub> -Struktur	Struktur im Ribosom
FAD <sup>+</sup> /FADH <sub>2</sub>	Flavinadenindinukleotid
ggr.	geringgradig
γ-GT	γ-Glutamyltransferase
GSH	Glutathion
eGSHPx	Erythrozyten-Glutathionperoxidase
GSHPx	Glutathionperoxidase
GSHR	Glutathionreduktase
GSSG	Glutathion-Disulfid-Glutathion
Hb	Hämoglobin
hgr.	hochgradig
HNE	Hydroxynonenal
ID	Jodthyronin-5'-Dejodinase



I. E.	Internationale Einheiten
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 $\beta$
KM	Körpermasse
LDH	Laktatdehydrogenase
LO	Lipoxygenase
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
makrosk.	makroskopisch
mgr.	mittelgradig
mRNA	messenger ribonucleic acid
NADP <sup>+</sup> /NADPH <sub>2</sub>	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
NMD	Nutritive Myodegeneration
obB	ohne besonderen Befund
PUFA	polyunsaturated fatty acids
SBP <sub>2</sub> -Struktur	Struktur im Ribosom
Se <sup>+</sup> , Se <sup>-</sup>	selensuffizient, selendefizient (je nach Zusammenhang)
Sec	Selenocystein
Se-GSHPx	Selen-abhängige Glutathionperoxidase
Se-P	Selenoprotein P
Ser	Serin
Se-W	Selenoprotein W

#### IV

SOD	Superoxiddismutase
sp./spp.	species (Singular und Plural)
T <sub>3</sub>	Trijodthyronin
T <sub>4</sub>	Tetrajodthyronin, Thyroxin
TBARS	thiobarbituric acid-reactive substances
TPO	Thyroidperoxidase
tRNA	transfer ribonucleic acid
TrxR	Thioredoxinreduktase
TS	Trockensubstanz
U	unit

# 1 Einleitung

Selen ist in mindestens elf Proteinen enthalten, die als Antioxidantien fast alle der Bekämpfung von Oxidradikalen dienen. Radikale entstehen im Organismus physiologisch im normalen Stoffwechselverlauf und werden von mehreren verschiedenen Antioxidantien neutralisiert. Diese sind untereinander durch komplizierte Regelungsnetzwerke verbunden und haben meist spezifische Aufgaben und Lokalisationen. Bei Selenmangel sind die Selenoproteine schneller aufgebraucht, und die Radikale können ungehinderter den Organismus schädigen. Dies führt zu den typischen Selenmangelsymptomen, die bereits gut erforscht sind.

Schon seit längerem ist bekannt, dass in Deutschland und insbesondere Süddeutschland relativ häufig Selenmangelsymptome beim Rind vorkommen. Es gibt bisher allerdings keine Daten über die Selenversorgung der Rinder über das Futter und die wirkliche Verbreitung des Selenmangels beim Rind in Deutschland.

Die Klinik für Wiederkäuer der LMU München in Oberschleißheim speist seit 1997 sämtliche Labordaten aus den Eingangsbloodproben, die bei nahezu jeder Aufnahme in die Klinik genommen werden, in ihr EDV-System ein. Zu diesen Labordaten zählt auch die Erythrozyten-Glutathionperoxidase, die einen indirekten Marker für die Selenversorgung des Tieres darstellt. Bis 2005 ergaben sich auf diese Weise fast 14.000 Datensätze, deren Auswertung Gegenstand dieser Dissertation ist.

Dabei soll zum einen durch kartographische Darstellung versucht werden, Selenmangelgebiete im Einzugsbereich der Klinik zu erfassen. Zum anderen soll geprüft werden, ob bestimmte Krankheitsbilder mit der Erniedrigung der GSHPx-Aktivität assoziiert sind, wobei eine kausale Verknüpfung, falls vorhanden, in beiden Richtungen interpretierbar wäre.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Geschichte des Selens

1817 entdeckte der schwedische Chemiker Jöns Jakob Berzelius (1779 - 1848) im Bleikammerschlamm einer Schwefelsäurefabrik ein neues Element. Er nannte es Selenium nach der antiken griechischen Mondgöttin Seléne (griechisch σελήνη = Mond), analog zum 30 Jahre zuvor entdeckten Element Tellurium (von lateinisch tellus = Erde). Das Halbmetall Selen gehört zur 6. Hauptgruppe, den Chalkogenen, und hat damit ähnliche chemische Eigenschaften wie Schwefel.

In der Folgezeit nach seiner Entdeckung fand man immer mehr Selenverbindungen. Sie sind durch das gleiche Bindungsverhalten den Schwefelverbindungen sehr ähnlich. Nach und nach bemerkte man die toxische Wirkung der Selenverbindungen und erklärte es fortan zum Gift. Die Toxizität hängt von der Oxidationszahl der jeweiligen Verbindung ab. Am toxischsten ist der Selenwasserstoff  $\text{H}_2\text{Se}$ , ein sehr giftiges, nach faulem Rettich stinkendes Gas. Ähnlich wie der Schwefel kann das Selen zahlreiche Salze bilden (Selenid, Selenit, Selenat usw.).

In den 1950-er Jahren machten chinesische Forscher die Entdeckung, dass in extremen Selenmangelgebieten bestimmte Krankheitssymptome auftraten. Seit 1957 gilt Selen als essenzielles Spurenelement, das erst bei Überversorgung toxisch wirkt (BROCKHAUS ENZYKLOPÄDIE 1999).

### 2.2 Selenoproteine

In den Folgejahrzehnten wurde auf dem Gebiet des Selens viel geforscht. Zunehmend wurden Proteine, meist Enzyme, die Selen enthielten, die so genannten Selenoproteine, entdeckt. Lange war man der Ansicht, dass es sich ähnlich wie beim Eisenatom im Häm um Wasserstoffbrückenbindungen im aktiven Zentrum handelte. Dann entdeckte man das Selenocystein, das heute von den meisten Wissenschaftlern als 21. Aminosäure anerkannt wird (LINUS-PAULING-INSTITUT, 2003).

Selenocystein entsteht aus Serin, das durch das UGA-Kodon kodiert wird, wie man aus cRNA-Analysen rückschließen konnte. UGA bedeutet normalerweise "Stopp", weshalb es lange dauerte, bis man die Mechanismen erforscht hatte, die den Einbau von UGA-Serin vom

Abbruch der Aminosäurenkette unterscheiden: Durch eine definierte mRNA-Nukleotidsequenz wird bei der Transkription in der Sekundärstruktur eine Haarnadelschleife gebildet, die zusammen mit dem UGA-Stoppkodon von der A-Stelle des Ribosomen erkannt wird (SBP<sub>2</sub>-Struktur). Durch die eEF<sub>Sec</sub>-Struktur ist das Ribosom fähig, die Selenocysteinyl-tRNA (tRNA<sub>Sec</sub>) zu erkennen und das Selenocystein einzubauen. Ursprünglich tragen tRNA<sub>Sec</sub> und tRNA<sub>Ser</sub> beide ein Serin und unterscheiden sich nur durch das Antikodon. Noch vor der Transkription wird jedoch das Selen eingebaut (BERG et al. 2003).

Selenoproteine gibt es nur in tierischen Organismen. Pflanzen nehmen Selen je nach Boden-gehalt auf und bauen ihn anstelle des Schwefels in ihre Moleküle ein. Dies betrifft vor allem das schwefelhaltige Methionin, in sehr geringem Umfang auch Cystein, da der pflanzliche Organismus im Gegensatz zum tierischen Organismus Selen und Schwefel nicht voneinander unterscheiden kann. So wird Selen von Pflanzenfressern vor allem als in den Proteinen enthaltenes Selenomethionin und Selenocystein über die Futterpflanzen aufgenommen. Nur die in ariden, selenreichen Gebieten (vor allem USA, China) vorkommenden primären und sekundären Selensammlerpflanzen speichern Selen auch als wasserlösliches Selen oder Selensalze (SCHARRER und WOLFFRAM 2005).

Bei Monogastriern wie Schweinen, Pferden und auch beim Mensch werden diese selenhaltigen Aminosäuren sehr effektiv (bis 100 % des in der Nahrung enthaltenen Selens) über den natriumabhängigen Resorptionsmechanismus für neutrale Aminosäuren resorbiert. Bei Wiederkäuern entsteht dagegen durch das reduktive Milieu im Vormagensystem teilweise wasserunlösliches elementares Selen und auch Selenid, die nicht resorbiert werden können. So resorbieren Wiederkäuer nur etwa 40 % des über das Futter aufgenommenen Selens. Das ist auch der Hauptgrund dafür, dass weltweit unter den Säugern hauptsächlich die Wiederkäuer unter Mangelsyndromen zu leiden haben (SCHARRER und WOLFFRAM, 2005).

Bisher wurden 11 Selenoproteine bei Säugern entdeckt:

### **2.2.1 Selenhaltige Glutathionperoxidasen (Se-GSHPx)**

1973 wurde entdeckt, dass Selen ein integraler Bestandteil des Enzyms Glutathionperoxidase ist. Von den selenhaltigen Glutathionperoxidasen sind bisher vier bekannt. Sie alle sind antioxidative Enzyme, die schädliche Peroxidradikale wie Wasserstoffperoxid und Lipidhydroperoxide neutralisieren.

Das kovalent gebundene Selen im aktiven Zentrum (Selenatform Enzym-Se<sup>-</sup>) reduziert Fettsäureperoxide zu Alkohol und Wasser und wird dabei zur Selenylsäureform oxidiert (Enzym-SeOH). Dazu kommt Glutathion (GSH), ein Tripeptid aus Glutamat, Cystein und Glycin, in seiner reduzierten Thiolform (2 GSH) und bildet mithilfe seines Schwefels im Cystein ein Selensulfidaddukt mit dem Selen (Enzym-Se-S-Glutathion). Das zweite Glutathion greift das Selensulfid an und bildet mit dem anderen Glutathion die durch eine Disulfidbindung gekennzeichnete oxidierte Glutathionform (GSSG). GSSG wird durch die Glutathionreduktase (GSHR) mit dem Flavoprotein Flavinadenindinukleotid (FADH<sub>2</sub>) wieder in die Thiolform oxidiert. Nikotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH<sub>2</sub>) fungiert als Elektronendonator und füllt FAD<sup>+</sup> wieder auf (JEROCH et al. 1999a, BERG et al. 2003).

Bereits im normalen Stoffwechsel werden diverse Oxygene wie Wasserstoffperoxide, Hydroperoxide, Lipoperoxide, Superoxide und Sauerstoffradikale produziert. Deshalb gibt es ein Zusammenspiel von mehreren Antioxidantien, die sich bei der Bekämpfung der Peroxide synergistisch ergänzen. Dazu gehören neben den Glutathionperoxidasen auch  $\alpha$ -Tokopherol (Vitamin E), Ascorbinsäure (Vitamin C), Katalasen und Superoxiddismutasen (SOD). Vitamin E wirkt in den Zell- und Zellorganellenmembranen, indem es die ungesättigten Fettsäuren durch Abfangen der Peroxidradikale davor schützt, zu Lipidperoxiden oxidiert zu werden. Es unterbricht die Kettenreaktion der Lipidperoxidation. Als immer noch giftiges Stoffwechselprodukt wird dabei Hydroperoxid gebildet. Vitamin E wird durch Ascorbinsäure sofort wieder regeneriert. GSHPx ist für Wasserstoffperoxide, Hydroperoxide und bereits vorhandenes Lipoperoxid zuständig, die es zu Wasser und Alkoholen reagieren lässt. Dies findet vor allem im wässrigen Milieu des Zytoplasmas und der Mitochondrienmatrix statt. SOD neutralisiert, wie der Name schon sagt, Superoxide. Glutathion ist zusätzlich wichtig für die Regeneration von Tokopherolen und Ascorbinsäure (JEROCH et al. 1999a).

Beim Synergismus von GSHPx und Vitamin E hat GSHPx die bedeutendere Rolle inne, da sich Selenmangel viel gravierender auf die Gesundheit auswirkt, während Vitamin E-Mangel sich bei guter Selenversorgung nahezu kompensieren lässt. Diagnostizierter "Vitamin E-Mangel" stellt sich nach weiterführender Diagnostik oft als Selenmangel heraus; die Symptomatik gleicht sich durch die ähnliche Funktion (SCHÄFER, 2002). Für die Supplementierung kann davon ausgegangen werden, dass bei Selenmangel der Vitamin E-Bedarf steigt und umgekehrt (JONES et al. 1997).

Zusätzlich zur Funktion als Antioxidativum hat die GSHPx in den Hoden und Nebenhoden von Säugern auch regulatorische Aufgaben bei der Entwicklung und Reifung von Spermien

und spielt außerdem eine Rolle als Strukturprotein im Spermium (Schwanzstück) (BURK et al. 2003).

Folgende selenhaltige Glutathionperoxidasen wurden bereits beschrieben:

- **Zelluläre oder klassische Glutathionperoxidase (GSHPx-1)**
- **Extrazelluläre oder Plasmaglutathionperoxidase (GSHPx-2)**
- **Gastrointestinale Glutathionperoxidase (GSHPx-3)**
- **Phospholipidhydroperoxidglutathionperoxidase (GSHPx-4)**

#### **2.2.1.1 Die zelluläre oder klassische Glutathionperoxidase (GSHPx-1)**

Die zelluläre oder klassische Glutathionperoxidase (GSHPx-1), ein tetrameres Selenoenzym, kommt vor allem innerhalb von Zellen vor. In Erythrozyten stellt sie die einzige Glutathionperoxidase dar, weshalb die Erythrozyten-GSHPx einen sehr guten Parameter für die indirekte Bestimmung des Selenstatus darstellt (LINUS-PAULING-INSTITUT 2003).

GSHPx-1 inhibiert sehr effizient die zelluläre 5-Lipoxygenase-Aktivität (5-LO ist ebenfalls ein Hydroperoxidfänger) in Monozyten, auch bei niedrigen Thiolkonzentrationen. So beeinflusst GSHPx-1 die Regulation der zellulären 5-LO-Aktivität in mehreren Zelltypen und agiert somit als übergeordnete Instanz in der Hydroperoxidbekämpfung (STRAIF et al. 2000).

#### **2.2.1.2 Die extrazelluläre oder Plasmaglutathionperoxidase (GSHPx-2)**

Die extrazelluläre oder Plasmaglutathionperoxidase (GSHPx-2), ein ebenfalls tetrameres Selenoenzym, kommt außerhalb der zellulären Strukturen und vor allem gelöst im Plasma vor. Sie enthält 21,1 % bis 24,3 % des gesamten Plasma-Selens beim Menschen (LINUS-PAULING-INSTITUT 2003).

#### **2.2.1.3 Die gastrointestinale Glutathionperoxidase (GSHPx-3)**

Die gastrointestinale Glutathionperoxidase (GSHPx-3), ein tetrameres Selenoenzym, kommt ausschließlich im Magen-Darm-Trakt in und um Schleimhautzellen vor, wo sie Sauerstoffradikale aus dem Darmlumen abfängt (LINUS-PAULING-INSTITUT 2003).

#### **2.2.1.4 Die Phospholipidhydroperoxidglutathionperoxidase (GSHPx-4)**

Die Phospholipidhydroperoxidglutathionperoxidase (GSHPx-4), ein monomeres oder tetrameres Selenoenzym, kommt in mehreren Geweben von Säugetieren in gelöster und gebundener Form vor. Besonders hervorzuheben ist ihre Fähigkeit, sich an große lipophile Substrate anzupassen, weswegen ihr antioxidatives Potenzial beachtlich ist und damit ihr besonderer Synergismus mit Vitamin E ( $\alpha$ -Tokopherol) erklärt wird. Die Reduktion von Lipidhydroperoxiden ist auch verantwortlich für die beobachtete Modulation der Zyklooxygenase (COX) und die Inhibition der 15-Lipoxygenase (15-LO) (LINUS-PAULING-INSTITUT 2003).

#### **2.2.2 Die Thioredoxinreduktase (TrxR)**

Die Thioredoxinreduktase ist an der Regeneration mehrerer antioxidativer Systeme beteiligt. Wie der Name schon sagt, reduziert sie das Thioredoxin, das wichtig für das Zellwachstum und die Lebensfähigkeit von Zellen ist. Sie wirkt damit regulierend auf das Redoxsystem der Thiole ein. Außerdem reduziert sie Dehydroaskorbat zu Askorbat und regeneriert somit ein wichtiges Antioxidans. Eine wichtige Rolle spielt sie auch in der DNS-Synthese (BURK et al. 2003).

#### **2.2.3 Die Jodthyronin-5'-Dejodinasen (Schilddrüsenhormondejodinasen) (ID-I, ID-II, ID-III)**

BECKETT et al. (1987) entdeckten, dass Selen einen wichtigen Bestandteil der Schilddrüsenhormondejodinasen bildet. Es gibt drei selenabhängige Jodthyronindejodinasen (Typ I, II und III). Sie können je nach Typ wichtige Schilddrüsenhormonreaktionen katalysieren, deren wichtigste die Entfernung des vierten Jodatoms von Thyroxin ( $T_4$ ) und damit die Umwandlung in das hormonell aktive Trijodthyronin ( $T_3$ ) ist. Selen ist unabdingbar für den Stoffwechsel der Schilddrüse. Bei Selenmangel reichert sich  $T_4$  in den jeweiligen Zielgeweben an und die Schilddrüsenaktivität ist deutlich vermindert (JEROCH et al. 1999a).

$T_3$  kann ebenfalls als zuverlässiger Parameter für den Selenstatus beim Rind zugezogen werden, da seine Konzentration im Plasma bei selendefizienten Tieren signifikant vermindert wird. Die Konzentration von  $T_4$  bleibt hingegen unbeeinflusst oder steigt an (AWADEH et al. 1998a).



#### **2.2.4 Selenoprotein P (Se-P)**

Selenoprotein P ist ein sehr häufiges extrazelluläres monomeres Glykoprotein bei Säugetieren, das mehr als 10 Selenocysteine in seiner Polypeptidkette enthält. Es findet sich sowohl im Plasma als auch durch seine Heparinbindungseigenschaften assoziiert mit Gefäßendothelzellen. In sämtlichen Geweben wird es exprimiert. Es scheint sowohl ein Transportprotein zu sein als auch die Endothelzellen vor Schaden durch die reaktiven Peroxynitrite zu schützen. In vitro reduziert es Phospholipidhydroperoxid. Seine Hauptfunktion scheint die extrazelluläre Oxidantienabwehr zu sein. Seine Plasmakonzentration ist stark abhängig von der momentanen Selenversorgung und dem Zustand der Leber; so ist Se-P bei Diquat-induzierter Leberzirrhose und auch nach Schädigung der Leberepithelien stark vermindert. Es hat einen sehr schnellen Umlauf im Plasma, so dass nahezu 25 % des gesamten Körperselens einmal pro Tag das Se-P passieren. So ist Se-P überaus wichtig für die Selen-Homöostase des Körpers (PERSSON MOSCHOS, 2000, AWADEH et al. 1998b). SAITO und TAKAHASHI (2002) entdeckten, dass die Selenversorgung von Zellen offenbar allein vom Selenoprotein P abhängt. HILL et al. (2003) stellten allerdings fest, dass es außer Se-P noch andere Selentransportformen geben muss, da Se-P-Knockout-Mäuse trotz des Fehlens von Se-P in allen Geweben außer den Hoden positiv auf einen diätetischen Anstieg von Selen reagierten.

#### **2.2.5 Selenoprotein W (Se-W)**

Selenoprotein W befindet sich in der Muskulatur, wobei seine Rolle noch unbekannt ist (LINUS-PAULING-INSTITUT, 2003).

#### **2.2.6 Selenphosphatsynthetase**

Die Selenphosphatsynthetase katalysiert die Synthese von Monoselenphosphat, einem Vorläufer von Selenocystein, das dann für die Synthese der Selenoproteine verwendet wird (LINUS-PAULING-INSTITUT 2003).

## 2.3 Selenkonzentration und GSHPx-Aktivitäten

Folgende in Tabelle 2.1 aufgelisteten Korrelationen zwischen Vollblut-Selen-Konzentration und eGSHPx-Aktivität beim Rind wurden in Studien ermittelt:

*Tabelle 2.1 Korrelation zwischen Vollblut-Selen-Konzentration und eGSHPx-Aktivität beim Rind nach verschiedenen Autoren.*

Autoren	Korrelationskoeffizient r	verwendeter Test
SCHOLZ et al. (1981)	0,88	PAGLIA und VALENTINE
KOLLER et al. (1984)	0,87	PAGLIA und VALENTINE
KHAN et al. (1987)	0,92	nicht benannt
JUKOLA et al. (1996)	0,78	GÜNZLER

Bei dem in der Klinik für Wiederkäuer verwendeten Testkit „RANSEL Glutathione Peroxidase“ korrespondieren die Werte nach Angaben der Hersteller (RANDOX LABORATORIES, 1996) folgendermaßen:

**1200 U eGSHPx/g Hb = 1 mg Se/l Vollblut**

Folgende eGSHPx-Referenz-Aktivitäten (Tabelle 2.2) und Selen-Referenz-Konzentrationen (Tabelle 2.3) wurden von verschiedenen Autoren aufgestellt:

*Tabelle 2.2 eGSHPx-Aktivitäten beim Rind in U/g Hb nach verschiedenen Autoren.*

Autoren	defizient	niedrig-marginal	marginal	adäquat
RANDOX LABORATORIES (1996)	< 60	61 - 100	101 – 130	> 130
SCHOLZ und STÖBER (2002a)	< 60		60 - 140	> 140
ENJALBERT et al. (2006)	< 75	75 - 150	151 - 220	221 – 600

*Tabelle 2.3 Selen-Konzentrationen beim Rind in mg/l Vollblut bzw. Plasma nach verschiedenen Autoren.*

Autoren	defizient	niedrig-marginal	marginal	adäquat
RANDOX LABORATORIES (1996)	< 0,05 mg/l	0,051 – 0,083 mg/l	0,084 – 0,110 mg/l	> 0,110 mg/l Vollblut
WEIB (2005)				≥ 0,7 mg/l Vollblut
KAMPHUES et al. (2004)				≥ 0,0204 mg/l Plasma

Als Substrate zur Überprüfung der Selenkonzentration eignen sich nach KAMPHUES et al. (2004) Leber, Niere, Serum, Blut, Milch, Haare und Kammerwasser. Auch sollte man bei Verdacht auf Selen-Fehlversorgung Futterproben nehmen.

## 2.4 Selenmangelkrankheiten

### 2.4.1 Die Nutritive Myodegeneration (Weißmuskelkrankheit) des juvenilen Rindes

Beim Tier führt Selenmangel zur Weißmuskelkrankheit, die unter anderem auch Nutritive Myodegeneration (NMD) genannt wird. Betroffen sind vor allem die Jungtiere von Wiederkäuerarten. Ist die Selenkonzentration des Futters sehr niedrig, zeigen auch die Jungtiere anderer Pflanzenfresser wie Pferdefohlen und Ferkel Symptome (SCHOLZ und STÖBER, 2002a). Im Tierversuch konnten auch die Jungtiere der meisten anderen Haustier- und Versuchstierarten wie Hund, Nerz, Ratte, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen und Primaten erkranken - mit ähnlichen Symptomen (JONES et al. 1997).

Enthält das Futter weniger als 0,1 mg Se/kg TS, spricht man von einem unzureichenden Selengehalt für Wiederkäuer. Die Kuhmilch in Selenmangelgebieten hat nur einen Selengehalt von 30 bis 50 µg pro Liter Milch - zu wenig für ein rasch wachsendes Kalb (SCHOLZ und STÖBER, 2002a).

Vor allem Jungtiere raschwüchsiger Rinderrassen in den ersten Lebensmonaten bis zu einem halben Jahr sind betroffen. Selen hat wichtige Einflüsse auf das Wachstum und Stabilität besonders der quergestreiften Muskulatur. Bei der kongenitalen Form oder Neugeborenen-Myodystrophie liegen die Ursachen bereits bei der Seleninsuffizienz des Muttertieres während der Trächtigkeit (HOFMANN 2005). Dadurch steigen die Oxidantien im fetalen Organismus an und führen bereits im späten Fetalstadium zu Schäden. Die Neonatalen kommen tot oder lebensschwach zur Welt. Meist sterben diese Neugeborenen bald an Atmungs- oder Herzversagen (SCHOLZ und STÖBER, 2002a, ORR und BLAKLEY, 1997). Laut JEROCH et al. (1999a) handelt es sich bei der Lebens- und Saugschwäche von Kälbern um eine reine Se-Mangel-Krankheit, bei der zusätzliche Vitamin-E-Gaben nichts helfen.

Ist das Muttertier nur latent defizient, kommt das Jungtier bereits mit einem niedrigen Se-Status zur Welt. In Selenmangelbetrieben enthält die Milch meist ebenso zu wenig Selen. Es genügt bei diesen Saugkälbern nur ein kleiner Anlass wie Stress, Kälte oder Transport, um die Krankheit auszulösen. Oft spielt eine erhöhte Belastung der Muskulatur eine Rolle: beim Trinken oder Umsetzen in eine andere Box. Auch Durchfall kann der Auslöser sein (niedrige Selen- und Vitamin-E-Resorption). Die durch den erhöhten Stoffwechsel anfallenden Oxidantien können durch die niedrige GSHPx-Aktivität nicht mehr abgefangen werden und schädigen die Muskulatur. Das führt zu einer oft plötzlich und multipel einsetzenden Myodegeneration. Oft endet die enzootische Myodystrophie perakut durch plötzliches Herzversagen. Die akute Form äußert sich als myopathisch-dyspnöisches Syndrom oder Verschluckpneumonie. Chronisch erkrankte Kälber zeigen oft neurologische Symptome und allgemeine Schwäche. Durch eine erhöhte Anfälligkeit sind sie sehr empfänglich für Sekundärinfektionen (SCHOLZ und STÖBER, 2002a, ENJALBERT et al. 2006). Auch chronische Pansenazidose bei Pansen-trinkern ist ein häufiger Grund für sekundären Selenmangel, da das saure Pansenmilieu die Selenbioverfügbarkeit massiv einschränkt (HOFMANN 2005).

Eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids - PUFA) im Futter, die beim Rind mindestens 17 % des Nahrungsfetts ausmachen sollten. Bei längerer Lagerung beginnen sich die PUFA selbst zu oxidieren. Die dadurch entstehenden Peroxidradikale werden vom im Futter enthaltenen  $\alpha$ -Tokopherol (Vitamin E) abgefangen, das dadurch aufgebraucht wird. Im Pansen geht der Prozess weiter und verbraucht weitere Vitamin E-Moleküle, die der Organismus dringend gebraucht hätte. Reich an PUFA sind verschiedene tierische und pflanzliche Fette, wie sie Milchaustauschern und Kraftfutter zugesetzt werden. Auch junges Weidegras und Grünmais sind sehr PUFA-reich,

weshalb es nach dem Weideaustrieb von Mutterkühen mit ihren Saugkälbern oft zu bestandsweise gehäuften NMD-Ausbrüchen kommt: das Antioxidans Vitamin E wurde dezimiert und die schon niedrige GSHPx wird durch die Peroxidradikale schnell aufgezehrt (JONES et al. 1997, SCHOLZ und STÖBER 2002a).

Pathologisch-anatomisch ist die Krankheit durch symmetrische fleckförmig-streifige Muskelfaserdegeneration gekennzeichnet. Dabei sind Muskelgruppen der Halswirbelsäule und des Schultergürtels, der Brust- und Stammmuskulatur und des Beckens besonders betroffen. Auch die Zwerchfell- und Zungenmuskulatur und das Herz können geschädigt werden. Letzteres kann bei chronischer Erkrankung links stark dilatieren (Kugelherz). Makroskopisch erscheint die stumpf-trockene und derbe Muskulatur grauweiß bis gelblich. Histologisch findet bei der Weißmuskelkrankheit ZENKER-Degeneration der Skelettmuskeln mit hyalinscholligem Zerfall, Fragmentierung, Kalzifizierung, Influx von Makrophagen, Satellitenzellproliferation, mehrkernigen Muskelknospen (Regenerationsversuche) und Resorptionserscheinungen in unterschiedlichen Stadien statt. Parallel kann man Reparationsversuche mit fibrovaskulärem Bindegewebe beobachten. Am Herzen sind zusätzlich zu den Muskelzellen auch die PURKINJE-Fasern betroffen. Dies führt zur Herzmuskelnekrose und Herzversagen (ORR und BLAKLEY, 1997).

Labordiagnostisch führt die Muskelschädigung zur Erhöhung der Kreatinkinaseaktivitäten (CK) im Serum, welche neben den GSHPx-Aktivitäten ein wichtiger Parameter zur Diagnostik der NMD sind (JONES et al. 1997, HAFNER und DAHME 1999, SCHOLZ und STÖBER 2002a). Auch die Serum-Enzym-Aktivitäten (AP, AST, ALT, LDH) sind meist wesentlich erhöht. Die Symptomatik hängt stark von der Lokalisation der geschädigten Muskulatur ab: die Symptome kommen je nachdem aus den Bereichen Bewegung, Atmung, Kreislauf oder vorderer Verdauungstrakt. Durch Sekundärinfektionen können noch Weitere hinzukommen.

Bei Beeinträchtigung der Skelettmuskeln sind die Bewegungen steif (stiff calf disease) und vorsichtig, oft mit Muskelzittern. Zuerst zeigen sich Probleme beim Hinlegen, mit zunehmendem Fortschreiten der Krankheit auch beim Aufstehen. Es folgen vermehrtes Liegen und schließlich Festliegen. Der Kopf hängt tief oder wird seitlich eingeschlagen. Beim Liegen nimmt das Tier unphysiologische Stellungen mit weg gestreckten Beinen ein.

Geschädigte Atmungsmuskulatur bewirkt Dyspnö und Polypnö. Die Tiere liegen in Brustlage und atmen angestrengt mit ausgestrecktem Kopf.

Aus der Schädigung der Herzmuskulatur resultiert Kreislaufinsuffizienz mit ständig schwächer werdendem Herzschlag bei hoher Frequenz. In fortgeschrittenem Stadium kommen zunehmend Ödeme hinzu. Meist tritt ein erregungsbedingter Tod unter Stöhnen und Krämpfen ein, bei perakutem Verlauf oft das einzige Symptom (ORR und BLAKLEY 1997, SCHOLZ und STÖBER 2002a).

Bei Schädigung der Muskulatur des vorderen Verdauungstrakts wird die Unfähigkeit zum Saugen und Schlucken augenfällig. Die Tiere haben Durst und wollen trinken, können jedoch nicht. Es resultieren Leerkauen, Wickelkauen, Speicheln, Zähneknirschen, Husten und Verschlucken (Verschluckpneumonie). Die Zunge ist sehr derb und verdickt und rutscht mitunter seitlich aus der Maulspalte. Es resultiert zunehmende Dehydratation (SCHOLZ und STÖBER, 2002a).

Für die Muskeldegenerationssymptomatik kann auch Vitamin-E-Mangel verantwortlich sein. Es wird empfohlen, beides zu applizieren (JEROCH et al. 1999a).

Oft kommen durch das geschwächte Immunsystem Sekundärinfektionen wie Pneumonie und Enteritis mit der jeweiligen Symptomatik hinzu.

Es steht fest, dass es für NMD mehrere Ursachen geben muss als nur Selen- und Vitamin-E-Mangel, da in jedem Betrieb immer nur einzelne Tiere von NMD betroffen sind, während andere unter den gleichen Bedingungen symptomlos bleiben. Die Kausalitäten bei NMD lassen daher noch einige Fragen offen (SCHOLZ und STÖBER, 2002a).

#### **2.4.2 Die Überlastungsmiopathie des ruminierenden Rindes**

Das Pendant der Weißmuskelkrankheit (Kälber bis sechs Monate) ist beim Fresser ab acht Monaten, seltener beim adulten Rind die Überlastungsmiopathie des ruminierenden Rindes. In der angelsächsischen Literatur wird zwischen den beiden Miopathien meist nicht unterschieden. Auch hierbei handelt es sich um eine Faktorenkrankheit, bei der zum Selen-/Vitamin-E-Mangel noch andere, auslösende Faktoren hinzukommen. Je nach auslösendem Faktor werden diese Miopathien weiter unterteilt in die Anpassungsmiopathie, die Rupturmiopathie, die Kompressionsmiopathie, die Arbeitsmiopathie, die Transportmiopathie und in die Hetz- und Einfangmiopathie (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

Zusammenfassend seien als Ursachen körperliche Beanspruchungen meist nach Ruhephasen, ungenügende Weite der Muskel versorgenden Blutgefäße (nasskalte Witterung) oder ungenü-

gende Blutzufuhr durch Kompression bei längerem Festliegen genannt, wobei hypermyotrophe Fleischrassen ("Doppellender") häufiger betroffen sind (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

Die durch den Vitamin-E-/Selenmangel gegen Oxidation ungeschütztere Muskulatur hält der ungewohnten Belastung früher oder später nicht mehr stand und erleidet Schaden durch den ungebremsten Angriff der Radikale. Bei den betroffenen Muskelpartien kommt es zu multipel disseminierten Bereichen der Degeneration und Nekrose. In der Folge schließen sich häufig Schwellung und Induration der Muskeln bis zur völligen Funktionsbeeinträchtigung an (SCHOLZ und STÖBER, 2002b). Durch Reperfusionstörungen in der geschädigten Muskulatur werden perakut zusätzlich massenhaft Radikale frei, die zu einer noch rascheren Abnahme der verbliebenen Antioxidantien führen. Je nach Umfang der Schädigung kann es zu perakuten Todesfällen kommen (HOFMANN 2005).

Labordiagnostisch lassen sich Anstieg der Serum-CK-Aktivität und Myoglobinämie feststellen. Letztere führt häufig zur Myoglobinurie und Zunahme der Serumharnstoffkonzentration im Blut. Auch der Blutglukosespiegel steigt an. In schweren Fällen kommt es zu Hämokonzentration und myopathogener Nephrose. Die Myoglobinurie kommt nicht bei der Weißmuskelkrankheit vor und ist, abgesehen vom Alter des Tieres, ein wichtiger Unterscheidungsfaktor zu dieser (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

Die Myopathiesymptome zeigen sich sofort bis zwei Wochen nach der Überlastung; wie bei der Weißmuskelkrankheit treten Zittern ("Zitterkrankheit"), Steifheit der Glieder ("Maiensperigkeit") und Muskelschwäche auf, was sich vom zögernden Niederlegen und Aufstehen bis zum Niederstürzen äußern kann. Betroffen sind vor allem die stärker beanspruchten Muskelpartien von Rücken, Lende, Schulter- und Beckenpartie, die sich palpatorisch als derber und verdickt, aber nicht druckempfindlich erweisen. Offensichtlich ist die Sache für das Tier sehr schmerzhaft, was sich in angespannter Bauchdecke, aufgekrümmtem Rücken und untergeschobenen Hintergliedmaßen zeigt. Sind nur ein oder wenige Muskeln betroffen (z. B. nach wiederholtem Ausgrätschen, Festliegen), treten fibrilläre Muskelzerreißen ein, was sich spezifisch und ähnlich der Symptomatik bei einer Schädigung des versorgenden Nerven zeigt (Abblatten, Kniehängigkeit oder ähnliches) (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

Die Überlastungsmypathie kann spontan ausheilen oder sich in völlige Apathie, Anorexie, Dehydratation und Festliegen steigern. Oft sind auch die intestinale Muskulatur (Rachenmuskulatur, Ösophagus, Vormägen) und die Atemmuskulatur betroffen. Je nachdem führt dies in

der Folge zu Aspirationspneumonie, Untertemperatur und Zyanose durch mangelnde Lungenventilation. Durch Nierenversagen kann es zur Urämie kommen. Die Freisetzung von Kalium aus den beschädigten Muskelzellen führt zu Hyperkaliämie und in der Folge zur zentralnervösen Erregung und Herzschiidigung (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

Durch die Myoglobinurie ist der seltener als normal abgesetzte Harn rötlich bis kaffeebraun und bewirkt auf Hämoglobin-Teststreifen eine positive Reaktion. Durch die Myoglobinämie kann es zu primärer Photosensibilisierung kommen. Pathologisch sehen die Muskelfibrillen ähnlich aus wie bei der Weißmuskelkrankheit, was noch ergänzt wird durch sulzig durchsetzte Zerreißungsbezirke mit Einblutungen an den Rupturstellen. Leber und Nieren sind bei chronischer Erkrankung je nach Grad fettig degeneriert. Diagnostisch empfiehlt sich neben der klinischen Symptomatik die Ermittlung der CK-Aktivität im Serum, der auf das 100- bis 500-fache des Normalwerts ( $< 100 \text{ U/l}$ ) ansteigen kann und die Nadelbiopsie aus verdächtigen Muskelbezirken. Die Indizes für Lipidperoxidation (TBARS, Ascorbat-induzierte TBARS (ATBARS), Ascorbat-induziertes Hexanal und Eisen-induziertes 4-Hydroxynonenal (HNE)) im Muskelgewebe sind je nach Ausprägung oft wesentlich erhöht. Die Vitamin-E- und Selenversorgung ist fast immer insuffizient, wobei Selenmangel eine weitaus größere Rolle spielt als Vitamin-E-Mangel (WALSH et al. 1993, SCHOLZ und STÖBER, 2002b). Jedoch kann eine sehr hohe Vitamin-E-Konzentration bei sehr niedrigem Selen-Status zu einem Ausbleiben jeglicher Symptome führen.

Die Morbidität liegt bei 30 %, die Letalität bei 25 %. Die Heilungschancen hängen von der Ausdehnung der Schäden ab (SCHOLZ und STÖBER, 2002b).

## **2.5 Die Exkretion von Selen aus dem Körper**

Die Ausscheidung von Selen erfolgt über Kot, Harn, Atemluft (als Dimethylselenid) und Milch (JEROCH et al. 1999a).

SYMONDS et al. (1981) maßen bei vier Mastochsen die Exkretion von  $^{75}\text{Se}$  und stabilem Selen in Galle und Urin. 23 % des applizierten Selens wurden mit dem Urin ausgeschieden, nur 0,86 % bis 1,95 % mit der Galle.

Nach IVANCIC et al. (2001) erhöht sich mit steigender Selensupplementierung prozentual die Exkretion von Selen über Kot und Urin, während die Exkretion über die Milch im Verhältnis sinkt.



## 2.6 Wechselwirkungen zwischen Selen und anderen Substanzen

Antagonisten von Selen im Darm sind Schwefel, Arsen, Silber, Kalzium, Kupfer, Zink, Zinn, Kobalt, Quecksilber sowie ein hoher Gehalt von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs), ranzigem Fett, Nitraten/Nitriten (erhöhte Wasserstoffperoxidbildung), Sulfaten und Vitamin C im Futter (JONES et al. 1997, JEROCH et al. 1999a, HOFMANN 2005).

Nach KHAN et al. (1987) bewirkten steigende Schwefelgaben über das Futter (von 0,2 bis 0,75 %) keine signifikante Änderung der Erythrozyten-GSHPx- und Vollblut-Selen-Aktivitäten beim Rind.

IVANCIC et al. (2001) untersuchten die Auswirkungen von Schwefel- und Selen-Supplementierung auf den Selenstoffwechsel von Milchkühen. Ihr Ergebnis war, dass Schwefel die Selenhomöostase von Milchkühen aus dem Gleichgewicht bringen kann, insbesondere, wenn das Futter weniger als 0,3 mg Selen/kg TS enthält.

Die Resorption von Selen wird durch die Vitamine A und E gefördert (JEROCH et al. 1999a).

## 2.7 Selen und Stress

Stress welcher Art auch immer ist ein weiterer wichtiger Faktor zur Erklärung unphysiologischer GSHPx-Aktivitäten im Blut. Besonders Hochleistungsmilchkühe sind stressgefährdet und benötigen eine optimale Versorgung mit allen antioxidativ wirkenden Substanzen (MILLER et al. 1993).

## 2.8 Selen und Infektionsabwehr

AWADEH et al. (1998a) stellten bei Se-defizienten Kühen (Angus und Kreuzungen) einen signifikant verminderten IgG-Titer gegenüber adäquat supplementierten Gruppen fest. Sie empfahlen, den IgG-Titer bei der Se-Bedarfsschätzung mit einzubeziehen.

Nach HOGAN et al. (1990) besitzen Blut-Neutrophile von mit Selen supplementierten Milchkühen die signifikant erhöhte Fähigkeit, phagozytierte *Staphylococcus-aureus*-Bakterien zu lysieren. Bei der Lyse von *Escherichia-coli*-Bakterien gab es keinen Unterschied zu un-supplementierten Kühen. Die Phagozytose wurde durch Selen-Gaben nicht verändert.

PANOUSIS et al. (2001) fanden jedoch in ihrer Studie heraus, dass Selengaben bei Milchkühen signifikant die Produktion von spezifischen Antikörpern gegen *Escherichia coli* erhöhten.

Bei der Nutritiven Immunsuppression handelt es sich nach JEROCH et al. (1999a) um eine reine Se-Mangelkrankheit, die von Vitamin E nicht beeinflusst wird.

## **2.9 Selen und Reproduktion**

### **2.9.1 Selen und weibliche Reproduktion**

In der Literatur gibt es verschiedene Hinweise auf eine Beziehung zwischen Selenmangel und der Fruchtbarkeit des weiblichen Rindes.

Nach JEROCH et al. (1999a) gelten Fruchtbarkeitsstörungen bei Wiederkäuern als typische reine Se-Mangel-Krankheit, auf die Vitamin E keinen Einfluss hat. Dies gilt auch für das Nachgeburtsverhalten bei der Milchkuh. Nach BRZEZIŃSKA-SLEBODZIŃSKA et al. (1994) haben seleninsuffiziente Milchkühe der Rassen Holstein Friesian und Jersey eine wesentlich höhere Inzidenz an Nachgeburtsverhalten (> 12 h post partum) als selenadäquate Tiere (zusätzlich supplementiert mit 3 mg Se als Na-Selenit). Auch ENJALBERT et al. (2006) fanden in ihrer retrospektiven Studie außer einem erhöhten Risiko für Nachgeburtsverhalten und Metritis ein stark erhöhtes Risiko für Aborte und perinatale Kälbersterblichkeit bei Selenmangel.

BLACK und FRENCH (2004) verglichen drei Selenapplikationsformen (Injektion, intraruminaler Matrixbolus, intraruminaler Glasbolus) in Hinblick auf ihre Auswirkungen auf die Konzeptionsrate von Kühen der Rasse Holstein Friesian. Alle drei Gruppen unterschieden sich signifikant: Die Glasbolusgruppe hatte eine 1,8-mal höhere Konzeptionsrate als die Injektionsgruppe und eine 1,5-mal höhere Rate als die Matrixbolusgruppe.

Nach HOFMANN (2005) beeinflusst Selen auch die Östradiol- und Progesteronbildung und verbessert die Fruchtbarkeit.

Die Studie von JUKOLA et al. (1996) konnte dagegen zwischen Vollblut-Se-Konzentration und Fruchtbarkeitsstörungen (Anöstrus, Suböstrus, Ovarialzysten, Verzögerung der Ovulation) und Erfolg der Erstbesamung keinen Zusammenhang finden.

### 2.9.2 Selentransfer über Plazenta und Milch auf den Nachwuchs und Kälberentwicklung

Nach PEHRSON et al. (1999) korreliert der Selengehalt der Milch und im Blut der Mutterkuh signifikant mit dem Selengehalt im Blut des Kalbes ( $r = 0,59$  bis  $0,68$ ). Dabei hatte die mütterliche Fütterung mit Selenhefe bessere Auswirkungen auf die Selenversorgung des Kalbs als mit anorganischem Selen.

Über die Milch gibt der Organismus der Milchkuh 10 – 15 % des aufgenommenen Selens ab. Da Selen homöostatisch nur geringfügig reguliert wird, ist auch die Milch ein guter Indikator für die Selenversorgung des Tieres (HOFMANN 2005).

Nach ENJALBERT et al. (1999) ist der diaplazentare Selentransfer effizienter als der Selentransfer über die Milch ins Kalb (Experiment mit Mutterkühen der Rasse Salers). Sie empfehlen bereits eine präpartale Supplementierung. Denn eine parenterale Supplementierung von 1,38 mg Se an neonatale Kälber führte zu keinem adäquaten Selenstatus, jedoch die orale Supplementierung der Kuh von 13,0 mg Se/d präpartal über einen Zeitraum von 15 Tagen.

ROWNTREE et al. (2004) untersuchten die Auswirkung von oraler Se-Applikation auf Mutterkühe und ihre Kälber. Zum Zeitpunkt der Geburt hatten die Kälber der gedrenchten Kühe noch analog zu den Mutterkühen wesentlich höhere eGSHPx-Aktivitäten. Bereits sieben Tage später bestand jedoch schon kein Unterschied mehr zu den Kälbern der unsupplementierten Placebo-Gruppe.

Nach AWADEH et al. (1998a) und GUNTER et al. (2003) hat Se-Supplementierung über das Optimum hinaus keinerlei Einfluss auf die Gewichtszunahme von Kälbern. Umgekehrt führt Se-Mangel jedoch zu Wachstumsverminderungen (JEROCH et al. 1999a).

### 2.9.3 Der Einfluss von Selen auf die Eutergesundheit und Milchleistung

In der Studie von WEISS et al. (1990a) bestanden signifikante Unterschiede der Vollblut-Selen-Konzentration zwischen mastitiskranken Kühen (niedrig) und eutergesunden Kühen (hoch). Die Vollblut-Selen-Konzentrationen von Kühen mit einem hohen Milchzellgehalt waren signifikant niedriger als von Kühen mit einem niedrigen Milchzellgehalt.

Nach JUKOLA et al. (1996) war die Selenkonzentration negativ korreliert mit Euterinfektionen, vor allem mit *Staphylococcus aureus* (-17,7 %), *Arcanobacterium pyogenes* (-31,7 %)

und *Corynebacterium spp.* (-70,6 %). Niedrigere Se-Konzentrationen erhöhten jedoch nicht die Inzidenz klinischer Mastitiden.

MALBE et al. (2006) fanden in ihrer Studie heraus, dass Molke eine selenabhängige antibakterielle Aktivität besitzt, die das Wachstum von *Staphylococcus aureus* signifikant hemmt.

Nach WEIß (2005) führt Selenmangel beim Rind sowohl zu einem Anstieg der Mastitis-Inzidenz als auch zur Erhöhung der Zellzahlen in der Milch.

ENJALBERT et al. (2006) fanden in ihrer Studie keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Mastitiden und Selenmangel. Sie führten das Fehlen eines Zusammenhangs in ihrer Studie auf die Tatsache zurück, dass nach dem Auftauchen von Mastitiden routinemäßig Selen appliziert wurde und demzufolge die Herden bei ihrer Untersuchung dann selensuffizient waren.

#### **2.9.4 Der Einfluss von Selen auf die männliche Reproduktion**

Zum Einfluss von Selen auf die Reproduktion von Stieren liegen kaum Literaturangaben vor. VAISBERG et al. (2005) stellten eine negative Korrelation zwischen der GSHPx-Aktivität und dem Anteil immotiler Spermien bei Stieren fest.

#### **2.10 Selenmangelprävention und Optimierung der Fütterung**

Verminderung des Selengehalts im Futter führt zum primären Selenmangel. In der Literatur tauchen folgende Empfehlungen für die Versorgung von Rindern mit Selen auf (Tabelle 2.4 und Tabelle 2.5):

*Tabelle 2.4 Empfehlungen für die nutritive Selen-Supplementierung von Rindern.*

Anwendung bei	mg Se/kg TS Futter	Autoren
Kalb	0,41	AWADEH et al. (1998b)
Kalbin, Milchkuh	0,25	JEROCH et al. (1999a)
Milchkuh	0,3	IVANCIC et al. (2001)
Milchkuh	0,3	GERLOFF (2001)
Fleischrind; Trächtigkeit, frühe Laktation	0,1	CHENOWETH und SANDERSON (2001)

*Tabelle 2.5 Empfehlungen für Selengehalte in Mineralsalzmischungen für Rinder.*

Anwendung bei	mg Se/kg Mineralsalzmischung ad libitum	Autoren
Kuh	120 (Selen als Selenit)	AWADEH et al. (1998b)
Kuh	60 (Se als Selenhefe) (Selenhefe ist zurzeit in Deutschland nicht zugelassen)	AWADEH et al. (1998b)

Die futtermittelrechtlich zugelassene Höchstmenge von Selen in Alleinfuttermischungen beträgt 0,5 mg Na-Selenit/kg TS (45 % Selen), d. h. 0,225 mg Se/kg TS (JEROCH et al. 1999c).

Nach WEIß (2005) enthält das Futter in Deutschland durchschnittlich 0,15 bis 0,25 mg Se/kg TS. Getreidekörner enthalten nach JEROCH et al. (1999b) durchschnittlich 0,09 (Sommergerste) bis 0,11 (Hafer) mg Se/kg TS, Extraktionsschrote 0,1 bis 1,0 mg/kg TS.

Selenarm sind Getreide, Gräser und Magermilch, selenreich sind tierische Mehle sowie eiweißreiche Silagen, allerdings immer relativ zum Selengehalt des Bodens. Konservierungsmaßnahmen (Silieren, Trocknen, Propionsäurebehandlung) wirken sich jedoch negativ auf die Bioverfügbarkeit von Selen aus (HOFMANN, 2005).

PODOLL et al. (1992) verglichen die Bioverfügbarkeiten von Na-Selenit und Na-Selenat (orale Applikation), wobei sich für Na-Selenat ein kleiner Vorteil ergab.

KNOWLES et al. (1999) supplementierten selendefiziente Kühe 133 Tage lang mit Na-Selenat in einer Menge von 4 und 2 mg Se/d. Die Kontrollgruppe wurde nicht supplementiert.

Die Durchschnittsselenkonzentrationen in Blut, Milch und Leber stiegen konstant an und waren am Ende der 133-Tage-Periode 4,7- und 8,8-mal höher als bei der Kontrollgruppe. Niedrige Se-Zufuhr erwies sich um 27 % effizienter pro mg gefüttertes Se auf die Milch-Se-Konzentration als hohe Dosen.

Nach KHAN et al. (1987) wiesen Rinder im Wachstum fallende Se-Konzentrationen auf, die sich im Kalbinnenalter dann wieder normalisierten. Besonders trat dieses Phänomen in Beständen mit Sand- und Torfböden auf.

Nach WEISS et al. (1990b) erreichten Kühe innerhalb eines Monats durch orale Se-Supplementierung (0,2 mg Se/kg TS) zwar adäquate Plasma-Se-Konzentrationen, jedoch noch keine adäquaten eGSHPx-Aktivitäten.

Nach SCHÄFER (2002) empfiehlt sich die Applikation von Selen in Form von Na-Selenit als Kombinationspräparat mit Vitamin E (wegen der Synergieeffekte) oral oder parenteral. Wird Vitamin E mit Selen kombiniert, kann man die Vitamin E-Dosis stark reduzieren. Er befürwortet die Kombination von 5,0 mg Vitamin E/kg und 0,2 mg Selen/kg parenteral. Diese Injektion kann mit zweiwöchigem Abstand höchstens drei- bis viermal wiederholt werden, da die Autoren sonst toxische Effekte befürchten.

Nach BLACK und FRENCH (2004) führt die orale Selenapplikation durch intraruminale Boli bei gleicher Dosierung zu wesentlich höheren GSHPx-Aktivitäten als die Seleninjektion.

## **2.11 Selen und Boden**

Selenarme Böden, d. h. Böden mit weniger als 0,5 mg/kg Selen, finden sich vor allem in vulkanischen Gebirgsgegenden, wo das Selen durch die hohen Temperaturen der Eruptionen verdampft war. Auch Gebiete, deren Böden am Ende der Eiszeiten zum Beispiel durch Gletscherwasser ausgeschwemmt wurden, sind oft arm an Selen. Dies gilt analog auch für regenreiche Gebiete und Fluss- oder Schwemmlandschaften der Gegenwart. Selenmangelgebiete gibt es relativ viele und auf allen Kontinenten (HOFMANN 2005).

Je niedriger der Boden-pH-Wert ist, desto geringer ist die Bioverfügbarkeit von Selen. Letztere trifft vor allem auf diluviale Geschiebelehm-, Sand- und Verwitterungsböden zu. Nach HOFMANN (2005) existiert in Deutschland ein Nord-Süd-Gefälle des Boden-Selen-Gehalts. Bayern bildet mit nur 0,81 mg Se/kg Boden das bundesweite Schlusslicht (Schleswig-Holstein 2,6 mg Se/kg).

---

Nach MARTIN et al. (1999) gibt es von Südbayern kaum Selenproben aus der humosen Oberbodenschicht (das durchwuzelte Bodenmaterial, das von der Mineralbodenoberfläche bis etwa 30 (20 - 40) cm auf Acker und 15 (10 - 25) cm auf Grünland in den Untergrund reicht), in der die Futterpflanzen der Rinder wurzeln. Der einzige verfügbare Wert ist der Selengehalt des Lössbodens und Lösslehmbodens im Gebiet des Alpenvorlands und der Alpen (südlich einer Linie durch München), der 1,3 mg/kg betrug.

Auf den beiden folgenden Seiten befinden sich Karten des BAYERISCHEN GEOLOGISCHEN LANDESAMTES (1998) über die geologische Einteilung Bayerns (Abbildung 2.1) und den Oberbodengehalt von Selen (Abbildung 2.2). Allerdings stammen diese Werte größtenteils aus den Oberbodenschichten unter der Humusschicht, also unterhalb der Schicht, in der die Futterpflanzen wurzeln.

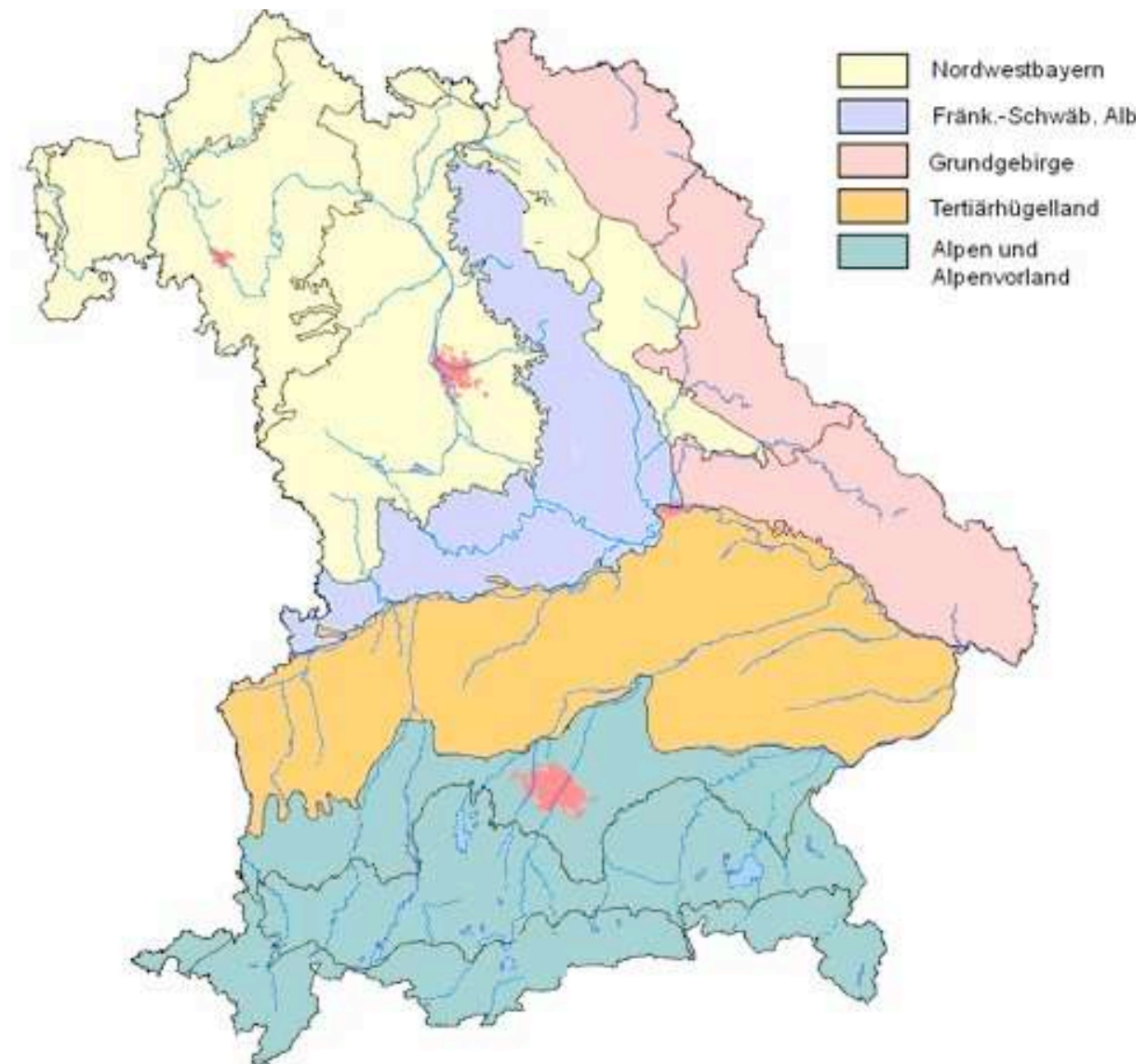


Abbildung 2.1 Übersichtskarte der geologischen Landschaften in Bayern. Quelle: BAYERISCHES GEOLOGISCHES LANDESAMT (1998).



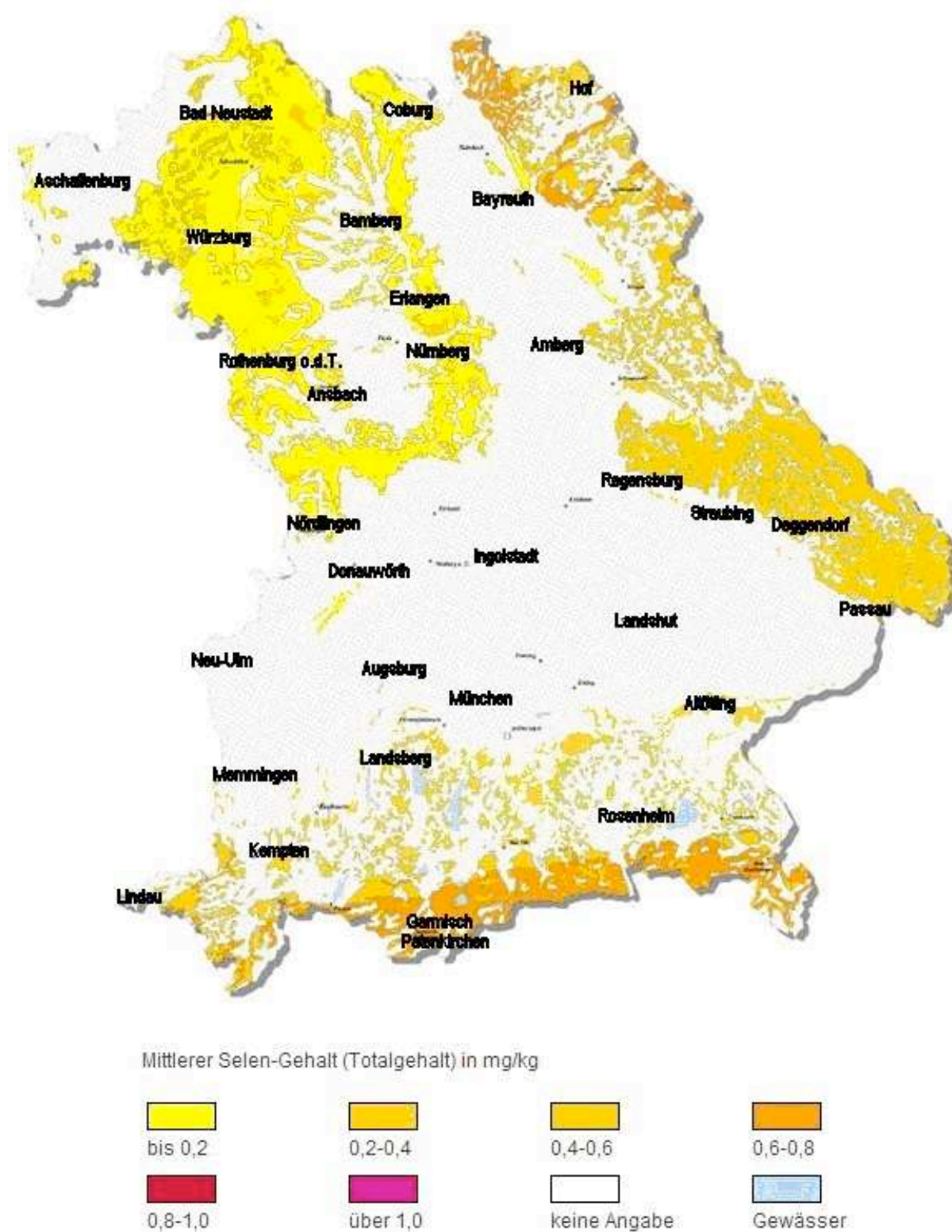


Abbildung 2.2 Selengehalte des Oberbodens in Bayern. Quelle: BAYERISCHES GEOLOGISCHES LANDESAMT (1998).

## **3 Eigene Untersuchungen**

### **3.1 Material und Methoden**

Bei jeder Aufnahme eines Rindes in die Klinik für Wiederkäuer der LMU München in Oberschleißheim werden zumeist bei der Eingangsuntersuchung, spätestens aber am nächsten Tag, die „Eingangsblutproben“, sechs Röhrchen insgesamt, genommen, wobei das erste zu befüllende Blutprobenröhrchen das Blutgasröhrchen ist. Somit ist die Wahrscheinlichkeit, dass das Blutgasröhrchen auch bei dehydrierten Tieren gefüllt wird, relativ groß.

Nach der Bestimmung der Blutgaswerte im Notfalllabor werden alle Röhrchen, darunter auch das Blutgasröhrchen mit der verbliebenen Menge Blut bei +4 °C konserviert.

Bei den Blutgasröhrchen handelt es sich um Monovetten der Firma Sarstedt mit einer Füllmenge von 2 ml. Als Gerinnungshemmer ist Kalzium-balanciertes Heparin in einer Konzentration von 50 I. E./ml Vollblut zugesetzt.

Im Labor wird aus dem noch im Blutgasröhrchen verbliebenen Vollblut die Erythrozyten-Glutathionperoxidase vollautomatisch in einem Hitachi 911E AUTOMATIC ANALYZER der Firma Hitachi Limited, Tokio, Japan, bestimmt. Bei sehr niedrigen Ergebnissen (GSHPx < 100 U/g Hb) wird die Bestimmungsprozedur wiederholt.

Für die Bestimmung der eGSHPx wird das Testkit „RANSEL Glutathione Peroxidase“ von der Firma RANDOX Laboratories Limited, Crumlin, Nordirland, Vereinigtes Königreich, verwendet.

#### **3.1.1 Das eGSHPx-Testverfahren**

Der GSHPx-Bestimmungstest basiert auf der Methode von PAGLIA und VALENTINE (1967): Das Enzym Glutathionperoxidase (GSHPx) katalysiert die Oxidation von reduziertem Glutathion (GSH) durch das zugegebene Kumolhydroperoxid (Isopropylbenzolhydroperoxid) (ROOH) zu Kumolhydroxid (ROH), oxidiertem Glutathion (GSSG) und Wasser. Das oxidierte Glutathion wird, katalysiert von der Glutathionreduktase (GSHR), sofort wieder unter Verbrauch von NADPH<sub>2</sub> in reduziertes Glutathion zurückverwandelt.

Dabei werden folgende Schritte vom Analysegerät automatisch durchgeführt: 0,02 ml Heparin-Vollblut werden mit 1 ml Verdünnungsmittel (destilliertes Wasser) verdünnt. Durch die Verdünnung liegen fast alle Glutathionperoxidasemoleküle in der reduzierten Form vor, was sie unempfindlicher gegen die DRABKIN-Lösung macht. Die verdünnte Probe wird 5 min bei 37 °C inkubiert. Danach wird 1 ml DRABKIN-Lösung zugegeben, die Natriumhydrogencarbonat, Kaliumferrizyanid und Kaliumzyanid enthält und dazu dient, die Erythrozyten zu hämolysieren, deren Glutathionperoxidasegehalt bestimmt werden soll. Anschließend folgt die Zugabe von 0,04 ml Kumolhydroperoxid als Oxidationsmittel.

Unabhängig davon wird zusätzlich noch eine so genannte Leerwertmischung aus den gleichen Ingredienzien gemischt, wobei statt der Probe destilliertes Wasser genommen wird.

Jede Probe bzw. Leerwertmischung wird gemischt und nach einer Minute werden bei einer Wellenlänge von 340 nm in einer Küvette mit der Schichtdicke 1 cm die jeweiligen Anfangsextingtionen gemessen. Nach jeweils ein und zwei Minuten werden die Messungen wiederholt. Der Leerwert wird jeweils vom Probenwert subtrahiert.

Die Glutathionperoxidase-Aktivitäten werden mit folgender Formel berechnet (Formel 1):

*Formel 1. Berechnung der eGSHPx-Aktivitäten (RANDOX Laboratories Ltd., 1996).*

**$U/l \text{ Hämolsat} = 8412 * \Delta E \text{ 340 nm/min}$**

Das Ergebnis wird mit dem Faktor 41 multipliziert, um die Einheit U/l Vollblut zu erhalten (Faktor laut Angabe des Herstellers).

Um die Einheit U/g Hb zu erhalten, geht man davon aus, dass in einem Liter Vollblut 100 g Hämoglobin enthalten sind, weshalb der erhaltene Wert noch einmal durch 100 dividiert wird.

Die seit 1968 geltende SI-Einheit für Enzymaktivität ist Katal (kat): 1 Katal = 1 Mol Substratumsatz/Sekunde = 60.000.000 Units. In der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung und den meisten anderen veterinärmedizinischen Stellen international gilt jedoch als Einheit für die eGSHPx-Aktivität nach wie vor U/g Hb.

### **3.1.2 Datenaufbereitung**

Die Daten wurden mit Excel (Microsoft 2007; [www.microsoft.com](http://www.microsoft.com)) und SPSS (Version 14; [www.spss.com](http://www.spss.com)) ausgewertet.

Ausgewertet wurden die EDV-Daten aller aufgenommenen Tiere aus dem Zeitraum vom 27.10.1997 bis 31.10.2005 ( $n = 13.943$ ). Bei der anschließenden Plausibilitätsprüfung wurden die Daten von vier Tieren eliminiert, deren GSHPx-Aktivitäten Kommastellen enthielten, was höchstwahrscheinlich auf Eingabefehler zurückzuführen war.

Die Werte der eGSHPx-Aktivitäten wurden als Histogramm dargestellt. Der eGSHPx-Bereich umfasste Aktivitäten von 1 bis 2281 U/g Hb, wobei nur zehn der 13.939 Tiere eine Aktivität über 1000 U/g Hb aufwiesen.

Für die Arbeit wurden Auswertungen mit unterschiedlichen Grenzen für Selenmangel durchgeführt:  $< 250$  U eGSHPx/g Hb,  $< 200$  U eGSHPx/g Hb,  $\leq 130$  U/g Hb,  $\leq 100$  U/g Hb und  $< 60$  U/g Hb berechnet.

### **3.1.3 Auswertung der EDV-Daten bezüglich Korrelationen, Alter, zeitlichem Verlauf**

Sämtliche in der EDV verfügbaren Laborwerte, Alter und das Aufnahmedatum wurden auf einen eventuellen Zusammenhang mit der eGSHPx-Aktivität mittels Korrelationskoeffizient nach PEARSON überprüft. Zusätzlich wurden diese Korrelationen nochmals gesondert bei der Gruppe der Tiere, deren GSHPx-Aktivitäten unter 250 U eGSHPx/g Hb lagen, bestimmt.

Zusätzlich wurden die eGSHPx-Aktivitäten nach Jahrgängen der Erhebung getrennt und die einzelnen Mediane im Zeitverlauf graphisch dargestellt.

Zuletzt wurden die Werte nach Altersgruppen getrennt und graphisch in Boxplots dargestellt. Für eine bessere graphische Darstellung wurden nur eGSHPx-Aktivitäten bis 1000 U/g Hb dargestellt. In einer zweiten Darstellung wurden diese Werte zusätzlich noch nach Geschlechtern getrennt. Die Werte wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede zwischen drei bzw. zwei Gruppen untersucht.

Der Boxplot (auch Box-Whiskers-Plot) fasst verschiedene Maße der zentralen Tendenz, Streuung und Schiefe in einem Diagramm zusammen. Als Box wird das durch die beiden Quartile bestimmte Rechteck bezeichnet. Sie enthält 50 % der Werte. Die Länge der Box

zeigt den Interquartilsabstand an. Dies ist ein Maß für die Streuung, welches durch die Differenz des oberen und unteren Quartils bestimmt ist. Der horizontale Balken in der Box stellt den Median dar. Die “Whiskers“ (T-Balken oberhalb und unterhalb der Box) zeigen die Extremwerte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilsabstands an. Extremwerte außerhalb dieses Bereichs werden als milde Ausreißer bezeichnet (dargestellt als **o**). Werte, die außerhalb des dreifachen Interquartilsabstandes liegen, werden als extreme Ausreißer bezeichnet (dargestellt als **\***) (SPSS, version 14; [www.spss.com](http://www.spss.com)).

### 3.1.4 Geographische Darstellung der Mediane

Das erste Ziel der Studie war es, die Daten kartographisch darzustellen, wobei der eGSHPx-Median aller Tiere dargestellt werden sollte. Für jedes Tier wurde die Postleitzahl des Herkunftsbetriebes aufgenommen, um die geographische Verteilung der Tiere mit ihren eGSHPx-Aktivitäten darzustellen. Sämtliche geographischen Parameter (Postleitzahl, Ort, Landkreis) wurden auf ihre Plausibilität untersucht und, falls nötig, anhand der Angabe in anderen geographischen Parametern korrigiert.

Das Ziel war es, den eGSHPx-Median der Postleitzahlen zu bestimmen. Im ersten Schritt wurde der Median aus allen verfügbaren Tieren des jeweiligen Postleitzahlenbereichs bestimmt. Da mit dieser Methode im Extremfall auch ein einzelnes Tier eines einzigen Betriebes in diesem Postleitzahlenbereich als „Median“ gelten konnte, wurden zwei weitere Schritte angeschlossen. In zwei Schritten wurden nur solche Betriebe selektiert, von denen mindestens zwei bzw. drei Tiere unter den Probanden waren.

Zusätzlich wurden für jeden einzelnen Betrieb die Mediane der eGSHPx-Werte der zugehörigen Tiere bestimmt und die Tierzahl notiert.

Aus den Postleitzahlen mit Betrieben mit mindestens drei Tieren wurden noch die Postleitzahlen, die mindestens drei Betriebe beinhalteten, selektiert, damit die Daten aussagekräftiger wurden. Die Anzahl der Postleitzahlen reduzierte sich dadurch beträchtlich.

Im Folgenden sind die jeweiligen Zahlen tabellarisch aufgelistet (Tabelle 3.1):

*Tabelle 3.1 Größe der einzelnen Fraktionen bei der Selektierung für die kartographische Darstellung.*

alle Betriebe, Gesamtanzahl	13.939	Tiere
Betriebe mit mindestens zwei Tieren, Gesamtanzahl	11.426	Tiere
Betriebe mit mindestens drei Tieren, Gesamtanzahl	9.459	Tiere
alle Betriebe gesamt	4.817	Betriebe
Betriebe mit mindestens zwei Tieren	2.305	Betriebe
Betriebe mit mindestens drei Tieren	1.392	Betriebe
alle Orte gesamt	848	Postleitzahlen
nur Orte mit Betrieben mit mindestens zwei Tieren	586	Postleitzahlen
nur Orte mit Betrieben mindestens drei Tieren	423	Postleitzahlen
alle Orte mit mindestens drei Betrieben	640	Postleitzahlen
Orte mit Betrieben mit mindestens zwei Tieren, mindestens drei Betriebe	248	Postleitzahlen
Orte mit Betrieben mit mindestens drei Tieren, mindestens drei Betriebe	159	Postleitzahlen

Die Daten wurden mit dem Geographie-Programm ArcGIS 8.3 (ESRI, 2002; [www.esri.com](http://www.esri.com)) kartographisch dargestellt.

### **3.1.5 Retrospektive Auswertung der klinischen Eingangsbefunde und Sektionsbefunde von Tieren mit wahrscheinlich sekundärem Selenmangel**

Das zweite Ziel der Studie war es, die Daten auf Hinweise auf Tiere mit sekundärem Selenmangel hin zu untersuchen.

Dabei wurden Einzeltiere selektiert, die eine niedrige eGSHPx-Aktivität aufwiesen, aber in ansonsten selensuffizienten Beständen (Betriebsmedian > 200 U eGSHPx/g Hb, mindestens drei Tiere) standen. Alle Zukaufstiere, die weniger als ein halbes Jahr im Einkaufsbetrieb standen, wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Um Betriebe als selensuffizient einzustufen, mussten die Daten von mindestens drei Tieren dieses Betriebs vorliegen. Mastbetriebe wurden generell ausgeschlossen, da ihr Tierbestand hauptsächlich aus Zukaufstieren besteht. Somit wurden Betriebe ausgeschlossen, die nur männliche Tiere über 60 Tage eingeliefert hatten. Hatte ein Betrieb dagegen nur männliche

Kälber mit einem Alter um zehn Tage, wurde er in der Auswahl belassen, da es sich bei diesen Tieren mit hoher Wahrscheinlichkeit um Nachzuchttiere handelte.

Die Tiere wurden anschließend in zwei Altersgruppen eingeteilt: in „Kälber unter 100 Tagen“ und „Tiere ab 100 Tagen“.

Für jedes dieser Selenmangeltiere wurde ein Kontrolltier aus der gleichen Altersgruppe aus dem gleichen Betrieb mit den höchsten eGSHPx-Aktivitäten in diesem Betrieb ausgewählt. Die Auswertung wurde für vier verschiedene Grenzwerte durchgeführt ( $< 200$ ,  $\leq 130$ ,  $\leq 100$  und  $< 60$  U eGSHPx/g Hb), gemäß der Grenzwerte von RANDOX Laboratories Ltd., 1996. Die „Selenmangel-Tiere“ hatten je nach Auswertung als höchste Aktivität 199, 130, 100 oder 59 U eGSHPx/g Hb, die „Nicht-Selenmangel-Tiere“ als niedrigste Aktivität immer 250 U eGSHPx/g Hb.

Zahlreiche Tiere wurden aufgrund des Vorberichts ausgeschlossen, da es sich dabei um Tiere aus Mastbetrieben handelte oder die Tiere kürzlich zugekauft waren. Musste ein Tier aus der Auswahl eliminiert werden, wurde auch das dazugehörige Kontrolltier ausgeschlossen. Ergab sich durch solche Ausschlüsse, dass der Betrieb entweder aufgrund der Anzahl der Tiere oder des Medians nicht mit den Selektionskriterien übereinstimmte, wurde er komplett ausgesondert.

*Tabelle 3.2 Gesamtanzahl der einzelnen eGSHPx-Gruppen von beiden Altersgruppen bei verschiedenen für die Auswertung herangezogenen Selenmangelgrenzen.*

<b>Altersgruppe</b>	<b>eGSHPx in U/g Hb</b>	<b>Anzahl (Paare)</b>
Kälber unter 100 Tagen	$< 60$	82 (41)
Kälber unter 100 Tagen	$\leq 100$	220 (110)
Kälber unter 100 Tagen	$\leq 130$	334 (167)
Kälber unter 100 Tagen	$< 200$	780 (390)
Tiere ab 100 Tagen	$< 60$	26 (13)
Tiere ab 100 Tagen	$\leq 100$	72 (36)
Tiere ab 100 Tagen	$\leq 130$	110 (55)
Tiere ab 100 Tagen	$< 200$	226 (113)

Nachdem die Paare festgelegt worden waren, wurden aus dem Klinikarchiv die Eingangskarteikarten kopiert. Diese enthielten den Vorbericht, die Eingangsbefunde und die über den Zeitraum erhobenen Diagnosen. Der weitere Krankheitsverlauf wurde nicht ausgewertet, da die

eGSHPx-Aktivität am Aufnahmetag erhoben wurde. Wurde ein verendetes oder euthanasierter Tier in das in Oberschleißheim benachbarte „Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit“ oder in das „Institut für Pathologie der LMU München“ in der Münchner Innenstadt eingeliefert, wurden auch deren Sektionsbefunde kopiert. Ebenfalls kopiert wurden Befunde von Kot- oder Gewebeproben, falls durchgeführt.

### **3.1.6 Kodierung der Befunde bei Kälbern unter 100 Tagen**

Die Befunde in der Gruppe „Kälber unter 100 Tagen“ wurden nach folgendem Schema ausgewertet. Dabei wurden die Befunde der verschiedenen Parameter zumeist in vier Kategorien eingeteilt, wobei 0 den physiologischen, nicht veränderten Zustand bezeichnete und 3 den höchsten Schweregrad. Die Kodierung 4 wurde immer dann gewählt, wenn keine Befunde zu diesem Parameter vorlagen.

#### **Körperhaltung**

- 0 physiologisch, keine Besonderheiten
- 1 ggr. schmerzhaft, entweder lahm oder aufgekrümmt
- 2 schwer aufzustellen, liegt viel, festliegend in Brustlage
- 3 festliegend in Seitenlage

#### **Verhalten**

- 0 ruhig, aufmerksam, neugierig, lebhaft, munter
- 1 müde
- 2 matt, sehr müde
- 3 apathisch, somnolent, bewusstlos

#### **Chronizitäts-Anzeichen**

- 0 Ernährungszustand gut, Haarkleid glatt, anliegend, glänzend
- 1 Ernährungszustand mäßig bis gut, Haarkleid noch glatt
- 2 Ernährungszustand mäßig, Haarkleid struppig
- 3 Ernährungszustand schlecht (kachektisch), Haarkleid struppig

#### **Atmungsapparat**

- 0 Atemfrequenz und Lunge ohne besonderen Befund
- 1 Atmungsapparat leicht beeinträchtigt (Lunge ggr. bis mgr. verschärft)
- 2 Atmungsapparat mittelgradig beeinträchtigt (Lunge hgr. verschärft)
- 3 Atmungsapparat hochgradig beeinträchtigt (Bronchopneumonie)



**Herz**

- 0 Herz-Kreislauf-System physiologisch
- 1 leichte Herzgeräusche, Leistung ohne besonderen Befund
- 2 deutliche Herzgeräusche, Leistung erkennbar eingeschränkt (Venenrückstau)
- 3 deutliche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens durch Herzinsuffizienz

**Harnapparat**

- 0 Harn physiologisch
- 1 Teststreifen-Hinweise auf Erkrankung des Harnapparats, Harn makroskopisch obB
- 2 Harn makroskopisch getrübt + positive Teststreifen-Befunde
- 3 Harn enthält Flocken, Blut + positive Teststreifen-Befunde

**Labmagen und Darm**

- 0 physiologisch
- 1 ggr. Beeinträchtigung (bis dünnbreiige Diarrhö, weniger als 3 Pansenkontraktionen/2 min)
- 2 mittelgradige Beeinträchtigung (Labmagenverlagerung, suppige Diarrhö)
- 3 hochgradige Beeinträchtigung (Torsion, Inkarzerierung, Labmagengeschwür)

**Pansen**

- 0 physiologisch
- 1 Pansensaft unphysiologisch, aber nicht gravierend
- 2 durchschnittlicher Pansenrinker
- 3 Pansenrinken gravierender, Euthanasie Ursache

**Nabel**

- 0 Nabel physiologisch
- 1 äußerer Nabelstrang derb und leicht verdickt
- 2 Omphalitis
- 3 Omphalophlebitis, Omphalourachitis, Omphaloarteriitis, periarterielles Hämatom

**Bewegungsapparat**

- 0 physiologisch (Gelenke trocken, keine Lahmheit, Klauen obB)
- 1 ggr. Beeinträchtigung (Dekubitus, oberflächliches Klauengeschwür)
- 2 mittelgradige Beeinträchtigung (Arthritis, kompliziertes Klauengeschwür)
- 3 hochgradige Beeinträchtigung (Sepsis, Polyarthritis, Phlegmone, Nekrosen)

Des Weiteren wurde der bisherige Krankheitsverlauf in Tagen und die Diagnosen aufgenommen. Diagnosen des Vorberichts wurden mit den später ermittelten Diagnosen zusammengeführt. Alle Diagnosen wurden mit 0 (negativ) und 1 (positiv) kodiert. Wurde ein Befund (z. B. Nierenproblem) nicht erhoben, wurde er mit 0 kodiert.

### **3.1.7 Kodierung der Befunde bei den Tieren ab 100 Tagen**

Die Auswertung der Befunde bei den Tieren ab 100 Tagen erfolgte ähnlich wie oben beschrieben:

#### **Körperhaltung**

- 0 physiologisch, keine Besonderheiten
- 1 ggr. schmerzhaft, entweder lahm oder aufgekrümmt
- 3 Kolikanzeichen, mgr. bis hgr. schmerzhaft
- 2 festliegend

#### **Verhalten**

- 0 ruhig, aufmerksam, neugierig
- 1 sehr ruhig, müde, fast apathisch
- 2 apathisch, somnolent, bewusstlos
- 3 sehr nervös, aufgeregt

#### **Chronizitäts-Anzeichen**

- 0 Ernährungszustand gut, Haarkleid glatt, anliegend, glänzend
- 1 Ernährungszustand mäßig, Haarkleid schön bis struppig
- 2 Ernährungszustand schlecht (kachektisch), Haarkleid struppig
- 3 Ernährungszustand sehr gut (adipös)

#### **Atmungsapparat**

- 0 Atemfrequenz und Lunge ohne besonderen Befund
- 1 Atmungsapparat leicht beeinträchtigt (Lunge ggr. bis mgr. verschärft)
- 2 Atmungsapparat mittelgradig beeinträchtigt (Lunge hgr. verschärft)
- 3 Atmungsapparat hochgradig beeinträchtigt (Bronchopneumonie)

#### **Herz**

- 0 Herz physiologisch
- 1 leichte Herzgeräusche, Leistung ohne besonderen Befund
- 2 deutliche Herzgeräusche, Leistung erkennbar eingeschränkt (Venenrückstau)
- 3 deutliche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens durch Herzinsuffizienz

**Harnapparat**

- 0 Harn physiologisch
- 1 Teststreifen-Hinweise auf Erkrankung des Harnapparats, Harn makroskopisch obB
- 2 Harn makroskopisch getrübt + positive Teststreifen-Befunde
- 3 Harn enthält Flocken, Blut + positive Teststreifen-Befunde

**Euter**

- 0 Euter weich, physiologisch, auch physiologischerweise ödematisiert, Milch obB
- 1 mindestens ein Viertel Schalmtest ++-, Milch makroskopisch obB
- 2 mindestens ein Viertel Schalmtest ++-, Milch makroskopisch verändert
- 3 Eutertastbefund unphysiologisch, Schalmtest mind. +++, Milch makrosk. verändert

**Verdauungsapparat**

- 0 physiologisch
- 1 ggr. Beeinträchtigung (bis dünnbreiige Diarrhö, weniger als 3 Pa-Kontraktionen/2')
- 2 mittelgradige Beeinträchtigung (Labmagenverlagerung, suppige Diarrhö)
- 3 hochgradige Beeinträchtigung (Torsion, Inkarzerierung, Labmagengeschwür)

**Geschlechtsapparat**

- 0 physiologisch je nach Zyklus und Reproduktionsstand
- 1 ggr. Beeinträchtigung (eitriges Vaginalsekret, Nachgeburtsverhalten)
- 2 mittelgradige Beeinträchtigung (übel riechendes Vaginalsekret, Pyometra)
- 3 hochgradige Beeinträchtigung (nekrotisierende Torsio, Beckenphlegmone)

**Bewegungsapparat**

- 0 physiologisch (Gelenke trocken, keine Lahmheit, Klauen obB)
- 1 ggr. Beeinträchtigung (Dekubitus, oberflächliches Klauengeschwür)
- 2 mittelgradige Beeinträchtigung (Arthritis, kompliziertes Klauengeschwür)
- 3 hochgradige Beeinträchtigung (Sepsis, Polyarthritis, Phlegmone, Nekrosen)

Aus dem Vorbericht wurde der bisherige Krankheitsverlauf in Tagen aufgenommen, und die dort genannten Diagnosen wurden mit den später in der Klinik erhobenen Diagnosen zusammengeführt. Wie bei den Kälbern wurden die Diagnosen mit 0 und 1 kodiert. Wurde ein Befund nicht erhoben, wurde er mit 0 kodiert.

Als Ergebnis resultierte bei beiden Gruppen für jedes Merkmal entweder eine Vierfelder-Tafel (Kodierung: nur 0 und 1; Freiheitsgrad = 1) oder eine Achtfelder-Tafel (Kodierung: 0, 1, 2 und 3; Freiheitsgrade = 3), in einem Fall eine Sechsfelder-Tafel (0, 1 und 2; Freiheitsgrade = 2). Diese Werte wurden mittels Chi-Quadrat-Test nach PEARSON auf eventuelle Zusammen-

hänge zwischen dem Selenmangel und den klinischen Befunden der Tiere untersucht (SACHS, 1999).

Waren bei bestimmten Parametern die Tierzahlen zu klein ( $< 10$  Tiere), wurde versucht, mehrere Kategorien zusammenzulegen. So wurden „BKF“ und „BVD/MD“ zu „viral bedingte Erkrankungen“ und in einem weiteren Schritt mit „bakteriell bedingten Erkrankungen“ (Listeriose und Paratuberkulose) zu „Infektionskrankheiten“ zusammengefasst.

Als Signifikanzgrenze wurde  $p = 0,05$  festgelegt. Wurden signifikante Ergebnisse erzielt, wurde die Odds Ratio als Maß für das erhöhte Risiko berechnet. Als abschließender Schritt wurde für jede Altersgruppe eine logistische Regression durchgeführt, wobei die abhängige Variable das Vorliegen eines Selenmangels war und alle anderen in der unvariieren Analyse mit  $p < 0,1$  ermittelten Variablen als abhängige Variablen in das Modell einfließen (SACHS, 1999). Dabei wurden die Variablen zuerst in ihrer ursprünglichen Kodierung ausgewertet und in einem weiteren Schritt die binär umkodierte (physiologisch/geringgradig verändert gegenüber mittelgradig/hochgradige Veränderungen) Variablen ausgewertet. Die logistische Regression ist ein Analyse-Verfahren, das dann zur Anwendung kommt, wenn die Zielvariable nur noch zwei mögliche Ausprägungen (dichotome Merkmale) hat. Dabei wird nicht mehr die Zielvariable direkt, sondern die Wahrscheinlichkeit, dass die Zielvariable eine gewisse Ausprägung annimmt (z.B. die Wahrscheinlichkeit, dass Selenmangel vorliegt), modelliert. Nachdem die Wahrscheinlichkeit eine Zahl zwischen Null und Eins darstellt, wird mittels logistischer Funktion auch der Einfluss der untersuchten Variablen zwischen Null und Eins beschränkt. Der Vorteil der logistischen Regressionsmodelle liegt darin, dass sich die erhaltenen Parameter sehr einfach in Odds Ratios transformieren lassen.

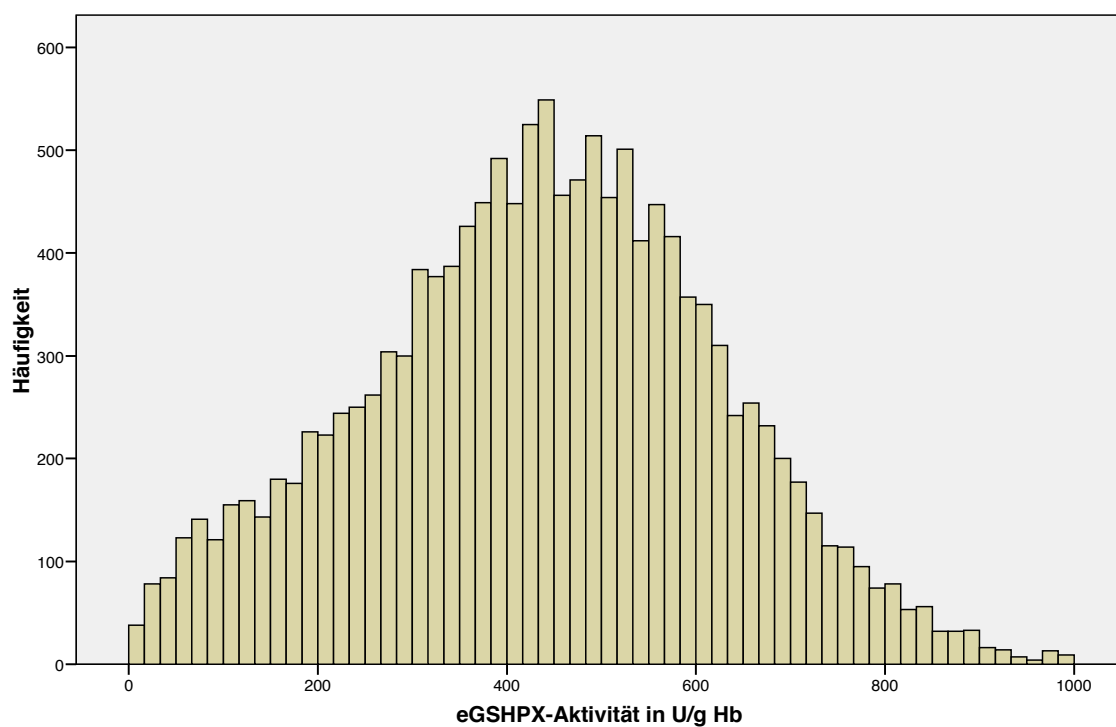
## 3.2 Ergebnisse

Tabelle 3.3 stellt jeweils die prozentualen Anteile der einzelnen Selenmangel-Gruppen an der Gesamtzahl der Patienten, Betriebe und Postleitzahlen dar.

*Tabelle 3.3 Prozentualer Anteil der Tiere der Selenmangel-Gruppe an der Gesamtzahl der Patienten, Betriebe und Postleitzahlen bei unterschiedlichen Grenzwerten.*

eGSHPx-Bereich	Prozentualer Anteil an der Gesamtzahl der		
	Patienten (n = 13.939)	Betriebe (n = 4.817)	PLZ-Bereiche (n = 848)
< 60 U/g Hb (defizient)	1,86 %	1,79 %	0,59 %
≤ 100 U/g Hb (niedrig-marginal)	4,29 %	4,26 %	1,53 %
≤ 130 U/g Hb (marginal)	6,26 %	6,21 %	2,59 %
< 200 U/g Hb (Grenzwert festgelegt für Paarbildung)	11,65 %	11,42 %	4,83 %
< 250 U/g Hb (Schwelle der Klinik für Wiederkäuer)	16,64 %	16,07 %	6,84 %

In Abbildung 3.1 ist die Verteilung der eGSHPx-Aktivitäten aller Klinikpatienten dargestellt. Der Mittelwert aller eGSHPx-Aktivitäten lag bei 437,8 U/g Hb, der Median bei 442,0 U/g Hb und die Standardabweichung bei 187,3 U/g Hb.



*Abbildung 3.1 Verteilung der eGSHPx-Aktivitäten in der Gesamtpatientenzahl der Klinik für Wiederkäuer ( $n = 13.939$ ).*

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Korrelationsberechnungen zwischen den aus der EDV verfügbaren Laborparametern und eGSHPx aufgeführt (Tabelle 3.4). Je nach Verfügbarkeit der Daten variiert die Anzahl der ausgewerteten Tiere mit den Parametern. Der Korrelationskoeffizient  $r$  war in keinem Fall höher als 0,10 in beide Richtungen.

Tabelle 3.4 Korrelationen von eGSHPx mit anderen Laborparametern

Parameter	Anzahl Tiere (alle)	Korrelation r mit eGSHPx	Anzahl Tiere < 250 U/g Hb	Korrelation r mit eGSHPx
AST	13.841	-0,01	2.289	-0,09
$\gamma$ -GT	13.847	-0,01	2.289	-0,09
Basenexzess	13.840	0,09	2.311	-0,07
Glutar	5.665	0,01	879	-0,06
CK	13.825	-0,03	2.283	-0,05
L-Laktat	13.742	0,02	2.264	-0,03
Natrium	13.880	-0,00	2.316	-0,03
Gesamtei- weiß	13.829	0,08	2.287	-0,02
GLDH	13.811	0,02	2.282	-0,02
Chlor	13.897	-0,03	2.317	-0,01
Glukose	13.807	0,02	2.283	-0,01
D-Laktat	2.984	-0,09	563	-0,00
Harnstoff	13.865	-0,06	2.293	0,02
Albumin	13.714	0,03	2.261	0,02
Kreatin	13.863	-0,01	2.294	0,03
Magnesium	13.834	-0,01	2.287	0,03
Leukozyten	13.733	-0,04	2.241	0,04
Anionenlücke	13.453	-0,08	2.267	0,04
Thrombozy- ten	13.714	-0,03	2.235	0,04
Alter	13.942	0,09	2.322	0,04
Hämoglobin	3.915	0,05	620	0,04
Hämatokrit	13.726	-0,08	2.240	0,06
Phosphor	13.833	-0,08	2.287	0,06
Kalzium	13.808	-0,06	2.282	0,07
Kalium	13.888	-0,08	2.317	0,08

In Abbildung 3.2 werden die Mediane der eGSHPx-Aktivitäten aller Tiere der Klinik für Wiederkäuer im Verhältnis zum Jahr der Datenerfassung dargestellt. Dabei traten Schwankungen des Medians von 381 bis 498 U eGSHPx/g Hb auf. Die Mediane unterschieden sich signifikant zwischen den Jahren (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,001$ ). Im paarweisen Vergleich erwiesen sich die meisten Mediane signifikant unterschiedlich von den Medianen der anderen Jahre. Die Mediane der Jahre 1998 und 2005 waren die niedrigsten und sie unterschieden sich nicht signifikant voneinander, jedoch signifikant von allen anderen Medianen.

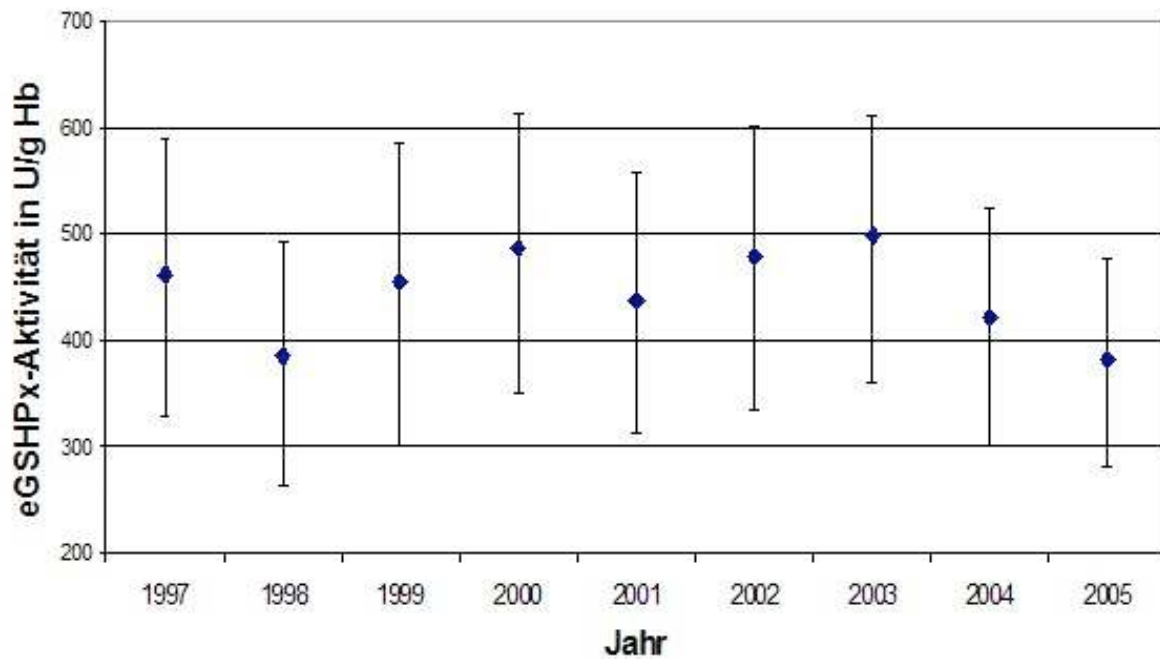


Abbildung 3.2 Mediane der eGSHPx-Aktivitäten aller Tiere in den Jahren 1997 bis 2005 mit 25 % und 75 % Quartilen.

Die folgenden beiden Graphiken stellen die GSHPx-Aktivitäten aller Tiere getrennt nach Altersgruppen dar (Abbildung 3.3 und Abbildung 3.4). In Abbildung 3.4 wird innerhalb der Altersgruppen auch noch nach Geschlecht unterschieden.



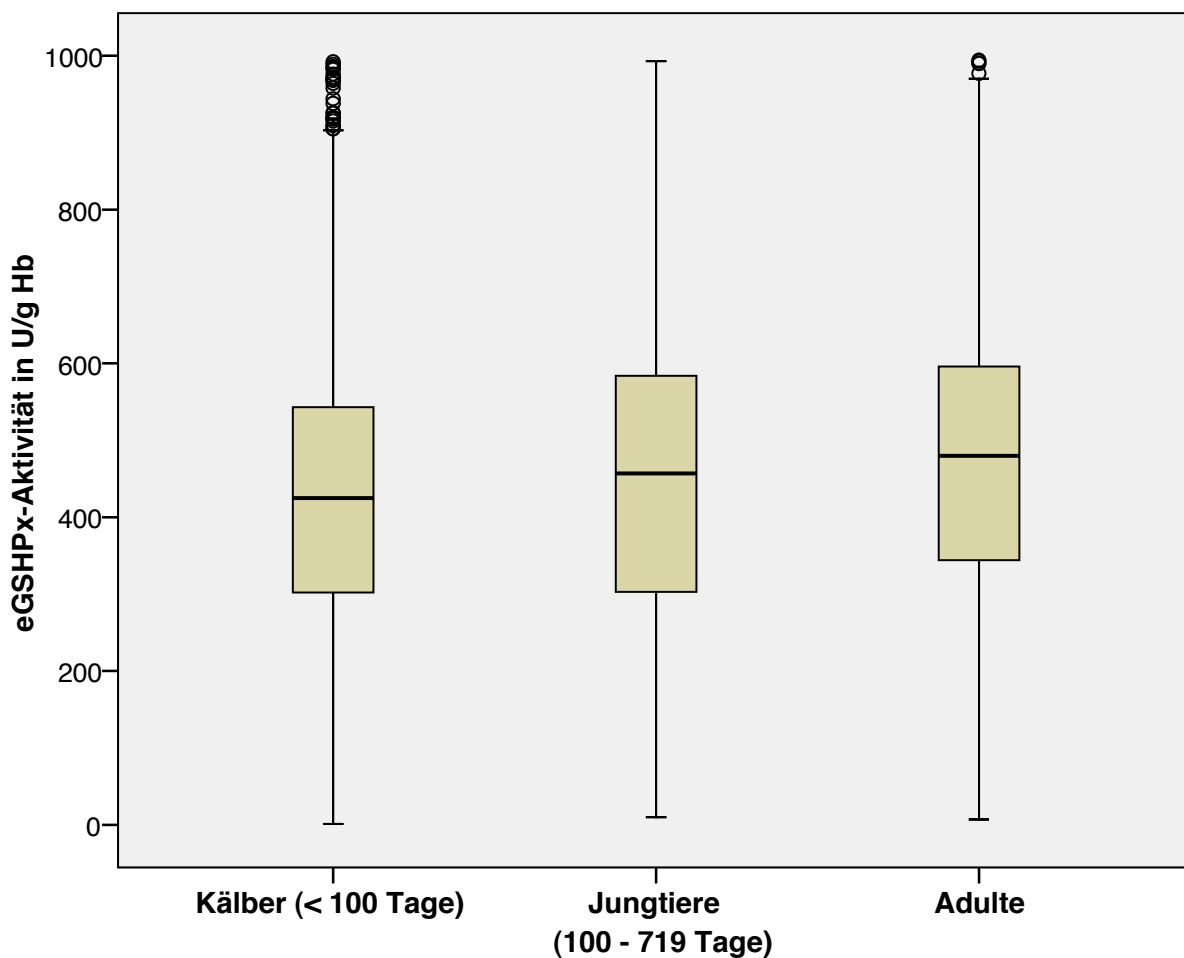


Abbildung 3.3 Box- und Whisker-Plots der GSHPx-Aktivitäten aller Tiere getrennt nach Altersgruppen ( $n = 13.939$ ;  $< 100$  d:  $n = 8.366$ ,  $100 - 719$  d:  $n = 1.769$ ,  $> 719$  d:  $n = 3.804$ ).

Zwischen den drei Altersgruppen gab es signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test,  $p < 0,001$ ), wobei sich alle drei Gruppen voneinander unterschieden (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,001$ ). Allerdings lagen die Mediane der eGSHPx-Aktivitäten der drei Gruppen alle in einem relativ engen Bereich (425 U/g Hb für die Kälber; 457 U/g Hb für die Jungtiere und 480 U/g Hb für die adulten Tiere).

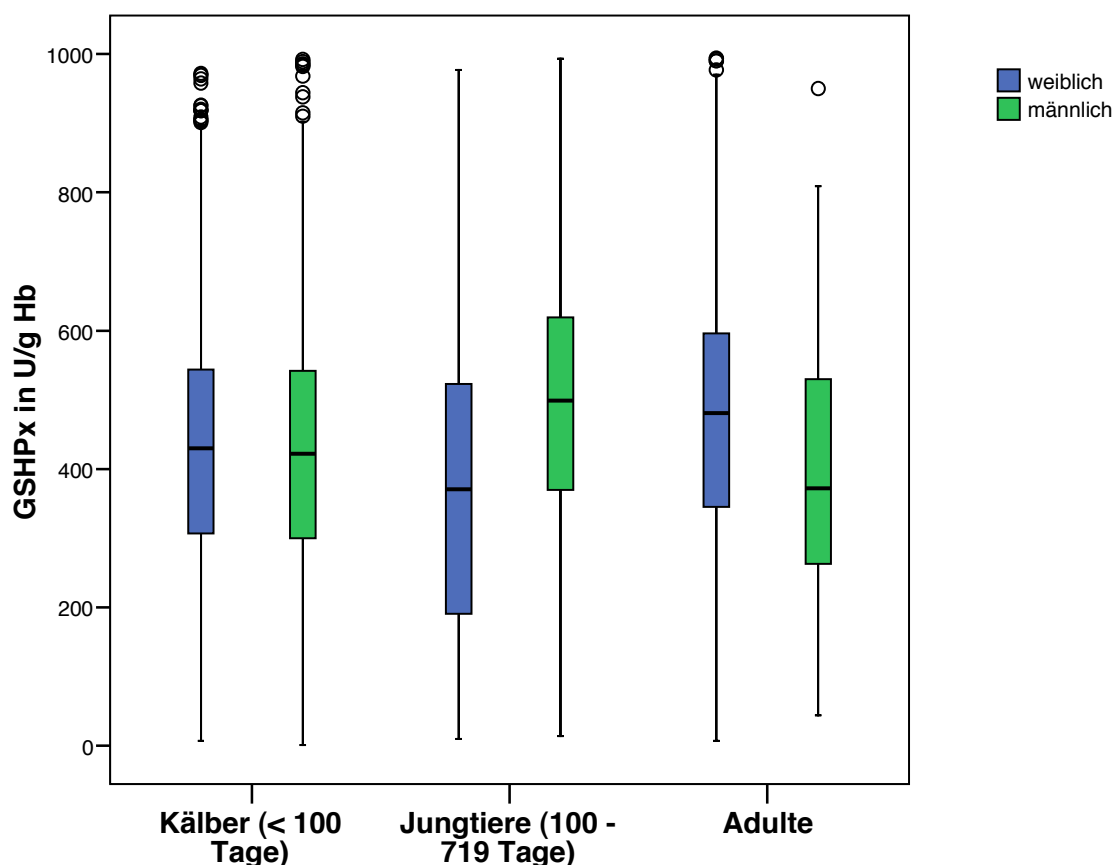


Abbildung 3.4 Box- und Whisker-Plots der GSHPx-Aktivitäten aller Tiere getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht ( $n = 13.927$ , männliche Tiere:  $< 100$  d:  $n = 4.919$ ,  $100 - 719$  d:  $n = 1.075$ ,  $> 719$  d:  $n = 29$ ; weibliche Tiere:  $< 100$  d:  $n = 3.435$ ,  $100 - 719$  d:  $n = 694$ ,  $> 719$  d:  $n = 3.775$ ).

Bezüglich Unterschiede in den eGSHPx-Werten innerhalb der Altersgruppen zwischen weiblichen und männlichen Tieren gab es nur signifikante Unterschiede in der Altersgruppe der Jungtiere (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,001$ ).

In den folgenden Graphiken wurden die eGSHPx-Mediane kartographisch dargestellt. In Abbildung 3.5 wurden alle vorhandenen Betriebe mit Sitz in Bayern dargestellt, während in Abbildung 3.6 nur die Betriebe mit mindestens drei Tieren aufgenommen wurden. Die kartographische Darstellungen der Betriebe mit mindestens zwei Tieren, der Postleitzahlen mit mindestens drei Betrieben und der Betriebe mit mindestens drei Tieren wurden nicht aufgeführt, da sie keine zusätzlichen Informationen liefern. In Abbildung 3.7 wurden die Tierzahlen pro Postleitzahl dargestellt.

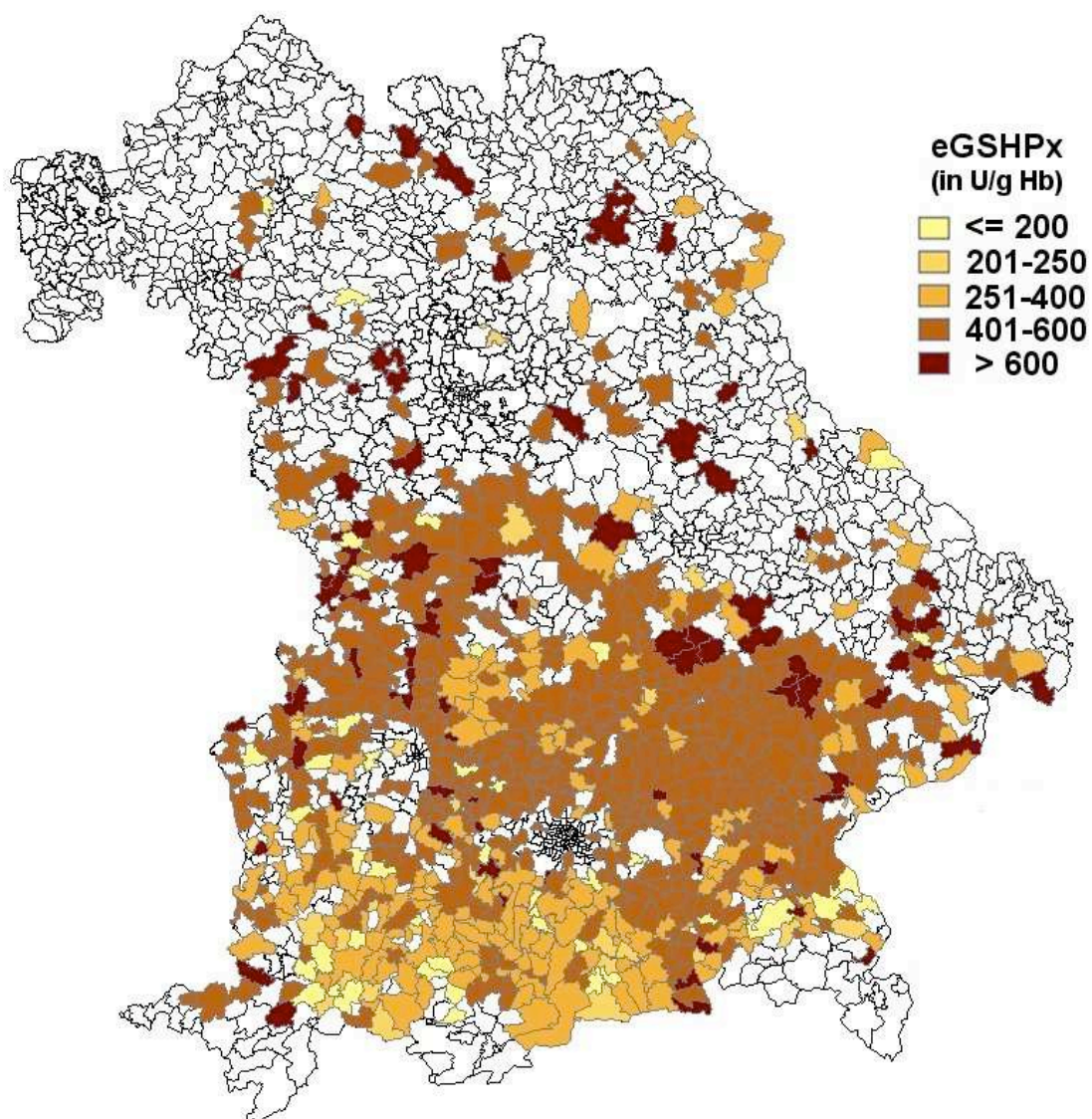


Abbildung 3.5 Kartographische Darstellung der eGSHPx-Mediane aller Tiere pro Postleitzahlenbereich in Bayern (Tiere:  $n = 13.892$ ; Betriebe:  $n = 4.748$ ; Postleitzahlen:  $n = 802$ ).

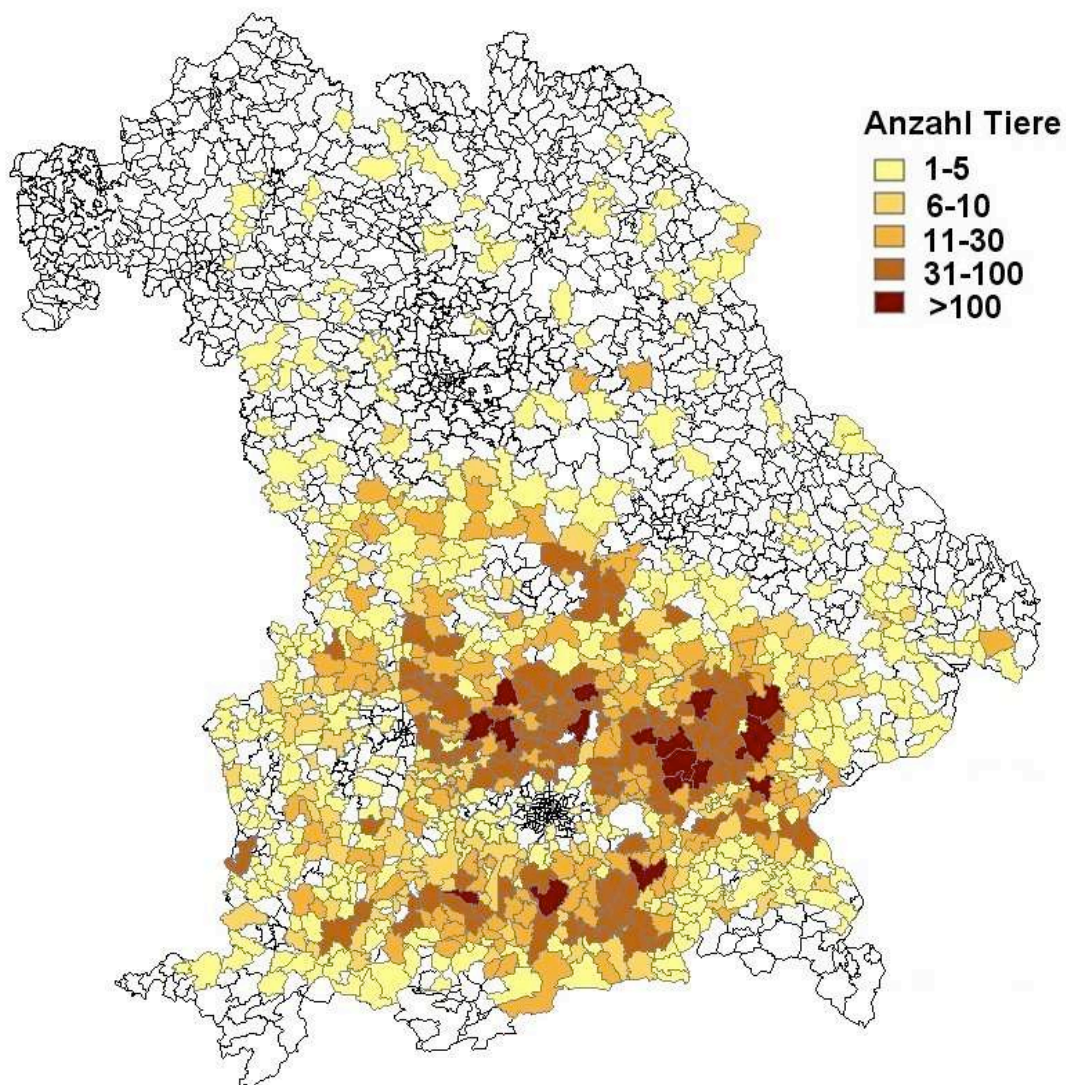
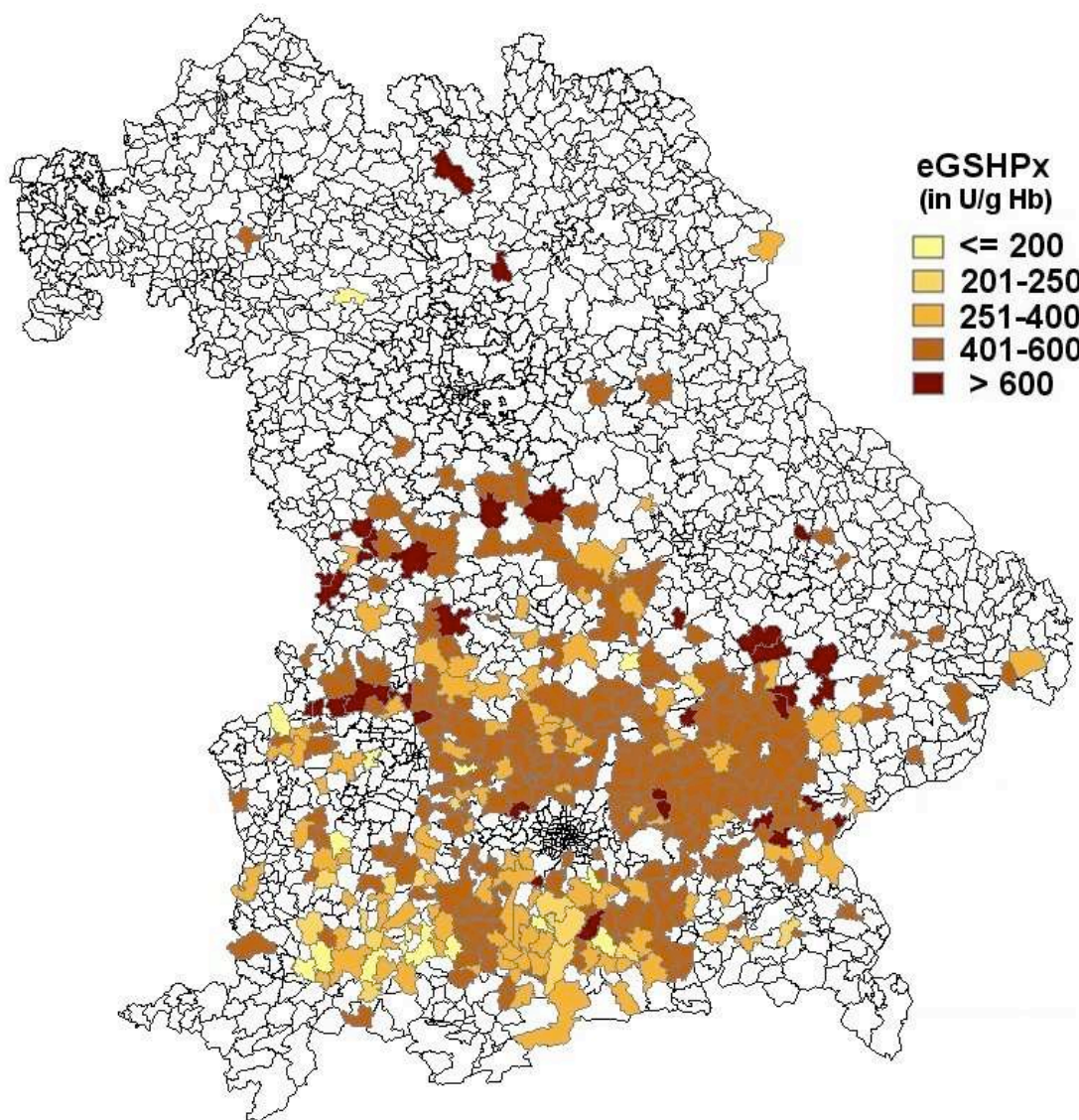


Abbildung 3.6 Kartographische Darstellung der Tierzahlen aller Betriebe pro Postleitzahlenbereich in Bayern (Tiere:  $n = 13.892$ ; Betriebe:  $n = 4.748$ ; Postleitzahlen:  $n = 802$ ).





*Abbildung 3.7 Kartographische Darstellung der eGSHPx-Mediane der Tiere nur der Betriebe mit mindestens drei Tieren pro Postleitzahlenbereich in Bayern (Tiere:  $n = 9.523$ ; Betriebe:  $n = 1.376$ ; Postleitzahlen:  $n = 408$ ).*

Die folgenden Tabellen (Tabelle 3.5, Tabelle 3.6, Tabelle 3.7, und Tabelle 3.8) listen Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der „Kälber unter 100 Tagen“ bei verschiedenen Grenzwerten für „Selenmangel“ auf:

*Tabelle 3.5 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der Zufallsauswahl der "Kälber unter 100 Tagen",  $eGSHPx < 200 \text{ U/g Hb}$ ;  $n = 200$  ( $100 Se^+ + 100 Se^-$ ).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Wert</b>
Gelenke/Klauen	3	0,0874
Infektionskrankheiten	1	0,1365
Virosen	1	0,2147
Harnapparat	3	0,2560
Nabel	3	0,2580
Infektionen allgemein	1	0,3222
Herz	3	0,3597
Sepsis	1	0,3717
Darmtrakt/Labmagen	3	0,3812
Körperhaltung	3	0,4193
Pansen	3	0,4320
Milz	1	0,4585
Myodystrophie	1	0,4585
Nachweis von Kryptosporidien	1	0,4585
Lunge	3	0,5975
Peritonitis	1	0,6121
Nachweis von <i>Escherichia coli</i>	1	0,6296
Darmtrakt	3	0,6738
Bakteriosen	1	0,8048
Leber	1	0,8335
Verhalten	2	0,8868
Ernährungszustand	3	0,9281

In die logistische Regression wurden die Infektionskrankheiten und Gelenke/Klauen als abhängige Variablen mit einbezogen. Es ergaben sich jedoch keine statistisch signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 3.6 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der „Kälber unter 100 Tagen“;  $eGSHPx \leq 130 \text{ U/g Hb}$ ;  $n = 334 (167 Se^+ + 167 Se^-)$ .

Merkmal	Freiheitsgrade	p-Wert (Yates korrigiert)	Odds Ratio
Körperhaltung	1 3	0,0137 0,0438	1,77 (1,12 - 2,79)
Ernährungszustand	1 3	0,0148 0,0480	1,77 (1,11 - 2,81)
Darmtrakt/Labmagen	1 3	0,0327 0,0779	1,87 (1,05 - 3,33)
Verhalten	3	0,1342	
Nachweis von <i>Escherichia coli</i>	1	0,1931	
Nabel	1 3	0,2241 0,0103	
Harnapparat	3	0,2789	
Infektionskrankheiten	1	0,3889	
Herz	3	0,4076	
Pansen	3	0,4216	
Gelenke/Klauen	3	0,4814	
Myodystrophie	1	0,5536	
Sepsis	1	0,5536	
Infektionen allgemein	1	0,5847	
Leber	1	0,6175	
Bakteriosen	1	0,6775	
Virosen	1	0,7688	
Peritonitis	1	0,8085	
Lunge	3	0,8092	
Milz	1	0,8176	
Nachweis von Kryptosporidien	1	0,8525	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Darmtrakt/Labmagen“, „Ernährungszustand“, „Körperhaltung“, „Nabel“ und „Nachweis von *Escherichia coli*“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Keine der Variablen wurde im Modell als statistisch signifikant bewertet; die Variablen hatten somit keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Selenmangel. Nach Umkodierung in binäre Variablen wurden mittels schrittweiser Vorwärtsselektion die Variablen „Körperhaltung“ und „Ernährungszustand“ mit  $p = 0,028$ ,  $p = 0,025$  und Odds Ratios von 1,64 und 1,66 als statistisch signifikant ausgewertet.

*Tabelle 3.7 p-Werte der Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der „Kälber unter 100 Tagen“; eGSHPx  $\leq$  100 U/g Hb; n = 110 (55 Se<sup>+</sup> + 55 Se<sup>-</sup>).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Wert (Yates korrigiert)</b>	<b>Odds Ratio</b>
Körperhaltung	1 3	0,0355 0,0417	1,84 (1,04 - 3,27)
Ernährungszustand	3	0,1838	
Darmtrakt	3	0,1894	
Sepsis	1	0,2187	
Nabel	1 3	0,2446 0,0251	
Gelenke/Klauen	3	0,4575	
Harnapparat	3	0,5035	
Pansen	3	0,5525	
Lunge	3	0,5676	
Herz	3	0,5678	
Verhalten	3	0,5938	
Peritonitis	1	0,7462	
Virosen	1	0,7462	
Infektionen allgemein	1	0,7493	
Milz	1	0,7666	
Myodystrophie	1	0,8146	
Nachweis von <i>Escherichia coli</i>	1	0,8222	
Leber	1	0,8288	
Infektionskrankheiten	1	0,8397	
Bakteriosen	1	1,0000	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Darmtrakt“, „Ernährungszustand“, „Körperhaltung“ und „Nabel“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Keine der Variablen wurde im Modell als statistisch signifikant bewertet; die Variablen hatten somit keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Selenmangel. Nach Umkodierung in binäre Variablen wurde mittels schrittweiser Vorwärtsselektion als einzige die Variable „Körperhaltung“ mit  $p = 0,031$  und einer Odds Ratio von 1,80.



*Tabelle 3.8 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der "Kälber unter 100 Tagen"; eGSHPx < 60 U/g Hb; n = 82 (41 Se<sup>+</sup> + 41 Se<sup>-</sup>).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Werte (Yates korrigiert)</b>	<b>Odds Ratio</b>
Nabel	1 3	0,0519 0,0484	0,18 (0,03 - 1,01)
Darmtrakt	3	0,1759	
Verhalten	3	0,2281	
Pansen	3	0,2724	
Herz	3	0,3691	
Ernährungszustand	3	0,3701	
Gelenke/Klauen	3	0,3823	
Körperhaltung	3	0,4481	
Leber	1	0,4798	
Nachweis von <i>Escherichia coli</i>	1	0,4798	
Harnapparat	3	0,5438	
Milz	1	0,6715	
Sepsis	1	0,7098	
Bakteriosen	1	0,7357	
Myodystrophie	1	0,7358	
Lunge	3	0,8023	
Infektionskrankheiten	1	0,8032	
Peritonitis	1	1,0000	
Virosen	1	1,0000	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Darmtrakt“ und „Nabel“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Keine der Variablen wurde im Modell als statistisch signifikant bewertet; die Variablen hatten somit keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Selenmangel. Nach Umkodierung in binäre Variablen wurde mittels schrittweiser Vorwärtss Selektion als einzige die Variable „Nabel“ mit  $p = 0,037$  und einer Odds Ratio von 0,18 als statistisch signifikant gewertet.

Folgende Ergebnisse ergaben sich bei der Auswertung der klinischen Befunde nach Selenmangelgruppe bei den Tieren ab 100 Tagen (p-Werte des Chi-Quadrat-Tests) (Tabelle 3.9, Tabelle 3.10, Tabelle 3.11):

*Tabelle 3.9 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der "Tiere ab 100 Tagen"; eGSHPx < 200 U/g Hb; n = 226 (113 Se<sup>+</sup> + 113 Se<sup>-</sup>).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Wert (Yates korrigiert)</b>	<b>Odds Ratio</b>
Kümmern	1	0,0036	0,00 (0,00 – 0,49)
Infektionskrankheiten	1	0,0043	7,85 (1,64 – 51,32)
Virosen	1	0,0378	5,39 (1,07 – 36,52)
Reproduktion	1	0,0562	
	3	0,5558	
Euter	1	0,1219	
	3	0,0844	
Parasitosen	1	0,1302	
Vaskulitis	1	0,2696	
Ernährungszustand	3	0,3059	
Verhalten	3	0,4948	
Harnapparat	3	0,5200	
Herz	1	0,5317	
	3	0,3720	
Sepsis	1	0,5364	
Lunge	1	0,5671	
	3	0,9107	
Darmtrakt	1	0,5677	
	3	0,8357	
Ketose	1	0,7299	
Gelenke/Klauen	1	0,7431	
	3	0,1572	
Körperhaltung	3	0,9181	
Peritonitis	1	1,0000	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Euter“, „Gelenke/Klauen“, „Infektionskrankheiten“, „Kümmern“, „Parasitosen“, „Reproduktion“ und „Virosen“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Im schrittweisen Vorwärtungsverfahren wurde die Interaktion zwischen den Variablen „Kümmern“ und „Infektionskrankheiten“ ausgewählt. Die Odds Ratio für einen Selenmangel für die Tiere, die kümmerten und Infektionskrankheiten hatten, betrug 13,41 (p = 0,001). Allerdings waren nur 10 Tiere als Kümmerer kodiert.

*Tabelle 3.10 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der "Tiere ab 100 Tagen"; eGSHPx  $\leq$  130 U/g Hb; n = 110 (55 Se<sup>+</sup> + 55 Se<sup>-</sup>).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Werte (Yates korrigiert)</b>	<b>Odds Ratio</b>
Kümmern	1	0,0358	0,00 (0,00 - 0,89)
Euter	3	0,1431	
Verdauung	3	0,1543	
Virosen	1	0,2078	
Vaskulitis	1	0,3161	
Parasitosen	1	0,3197	
Verhalten	3	0,5519	
Ernährungszustand	3	0,6582	
Harnapparat	3	0,7079	
Herz	3	0,7334	
Reproduktion	3	0,7340	
Körperhaltung	3	0,7496	
Lunge	3	0,7801	
Gelenke/Klauen	3	0,8985	
Bakteriosen	1	1,0000	
Ketose	1	1,0000	
Peritonitis	1	1,0000	
Sepsis	1	1,0000	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Euter“, „Kümmern“ und „Verdauung“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Keine der Variablen wurde im Modell als statistisch signifikant bewertet; die Variablen hatten somit keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Selenmangel.

*Tabelle 3.11 p-Werte des Chi-Quadrat-Tests der klinischen Auswertungen der "Tiere ab 100 Tagen"; eGSHPx  $\leq$  100 U/g Hb; n = 70 (35 Se<sup>+</sup> + 35 Se<sup>-</sup>).*

<b>Merkmal</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>p-Werte (Yates korrigiert)</b>	<b>Odds Ratio</b>
Kümmern	1	0,0634 0,0203	0,00 (0,00 - 1,10)
Euter	3	0,0827	
Verdauung	3	0,0893	
Peritonitis	1	0,2597	
Verhalten	3	0,2963	
Parasitosen	1	0,3533	
Sepsis	1	0,4731	
Atmung	3	0,5279	
Harnapparat	3	0,5376	
Körperhaltung	3	0,5975	
Virosen	1	0,6066	
Herz	3	0,6200	
Ernährungszustand	3	0,6731	
Reproduktion	3	0,7380	
Ketose	1	0,7511	
Gelenke/Klauen	3	0,7641	
Wunde	1	0,8012	

In die logistische Regression wurden die Variablen „Euter“, „Kümmern“ und „Verdauung“ als abhängige Variablen mit einbezogen. Keine der Variablen wurde im Modell als statistisch signifikant bewertet; die Variablen hatten somit keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Selenmangel.

Die Selenmangelgruppe mit eGSHPx < 60 U/g Hb ergab bei den „Tieren ab 100 Tagen“ nur 13 Se<sup>+</sup>-Tiere, weshalb auf eine Auswertung verzichtet wurde.

In der logistischen Regression bei den verschiedenen Auswertungen (Altersgruppen/Selenmangelgrenzen) ergaben sich keine statistisch signifikanten Ergebnisse.

## 4 Diskussion

Insgesamt kann von einer guten Selen-Versorgung der Rinder Bayerns und vor allem Südbayerns gesprochen werden, angesichts der Tatsache, dass nur 4,83 % der bovinen Klinikpatienten des untersuchten Zeitraums eine eGSHPx-Aktivität unter 130 U/g Hb und nur 2,59 % unter 100 U/g Hb aufwiesen.

Leider können diese Ergebnisse nicht mit Sicherheit als „sekundärer Selenmangel“ gelten, weil die Betriebe in dem langen Auswertungszeitraum von 1997 bis 2005 ihre Selensupplementierung geändert haben könnten, und Patienten aus den Anfangsjahren noch primär selendefizient waren, während in späteren Jahren supplementiert und dadurch der Gesamtmedian angehoben wurde.

Von Seiten der Geologie ist die Datenlage über den Bodengehalt von Selen sehr dürftig. Von Südbayern existieren nur vom Alpenvorland und den Alpen Selenkonzentrationen des relevanten Oberbodens, der Schicht, in der die Futterpflanzen der Rinder wurzeln. Leider beziehen sich die meisten Daten des BAYERISCHEN GEOLOGISCHEN LANDESAMTES (1998) auf den Oberboden in Wäldern und nicht auf Äckern und Grünland. Die einzige Angabe aus einer Studie von MARTIN (1999) über den Selenbodengehalt des Oberbodens von Äckern und Grünland in Südbayern bezog sich auf den Löss- oder Lösslehmboden im Alpenvorland und betrug 1,3 mg Se/kg Boden.

Laut HOFMANN (2005) bildet Bayern bundesweit bezüglich des Selenbodengehalts das Schlusslicht. Es verfügt durchschnittlich nur über 0,81 mg Se/kg Boden. Ab 0,5 mg Se/kg Boden gilt der Boden als selenarm.

Allerdings spielt nach HOFMANN (2005) auch noch der pH-Wert des Futters eine nicht unwesentliche Rolle für die Selen-Bioverfügbarkeit: je niedriger der pH-Wert desto schlechter die Bioverfügbarkeit. Dies trifft vor allem auf diluviale, also eiszeitliche, Geschiebelehm-, Sand- und Verwitterungsböden zu. Diese Böden kommen im eiszeitlich geprägten Südbayern mit seinen Urstromtälern und Moränenhügellandschaften relativ häufig vor. In der Eiszeit wurde das Selen aus dem Boden ausgeschwemmt.

Von den 13.939 ausgewerteten Daten wiesen nur zehn eine eGSHPx-Aktivität über 1000 U/g Hb auf, darunter fünf eine sehr hohe über 1200 U/g Hb. Diese Werte sind theoretisch möglich, jedoch sind auch Eingabefehler nicht auszuschließen. Allerdings spielen diese Extremwerte

keine Rolle in der Auswertung, weil nichtparametrische Tests und Mediane verwendet wurden.

Nachdem es zum Teil nur wenige Tiere pro Postleitzahl im Datensatz gab, und man nicht annehmen konnte, dass die jeweiligen eGSHPx-Aktivitäten normal verteilt waren, wurde der Median als Kenngröße statt des arithmetischen Mittelwerts ausgewählt.

Die kartographischen Darstellungen (Abb. 2 und 4) der Mediane der Erythrozyten-GSHPx-Aktivitäten der Postleitzahlen ergibt ein eindeutiges Bild der Selenversorgung der Rinder in Südbayern: Das Gebiet des Alpenvorlandes (im Westen das Bayerische Allgäu, weiter östlich der Pfaffenwinkel und das Bayerische Oberland) erweist sich als deutlich selenärmer als das nördlich angrenzende Gebiet des Schwäbischen und Altbayerischen Tertiärhügellandes. Vom östlichen Alpenvorland liegen sehr wenige Daten vor; im Gebiet um Rosenheim (Chiemgau) scheinen die Selenwerte besser zu sein als im weiter westlich gelegenen Oberland. Vom noch weiter östlich gelegenen Rupertiwinkel liegen überhaupt keine Daten vor. Die Mehrheit der eGSHPx-Mediane der Postleitzahlen liegt allerdings auch hier über einer eGSHPx-Aktivität von 200 U/g Hb. Die Tiere in den unteren Flusstälern (vor allem der Flüsse Donau, Lech und Isar) neigen zu höheren eGSHPx-Aktivitäten als die Tiere außerhalb, was aber angesichts der die Landschaften überlappenden Gemeindegebiete nur schwer schätzbar ist. Diese „Ausnahmeflecken“ auf der Karte können natürlich auch bedingt sein durch die regionalen Tierärzte, die ihre Landwirte zur Selen-Supplementierung anhalten oder auch nicht. Auch unterscheidet sich grob die Fütterung der Rinder der Tertiärhügelland-Landwirte von derjenigen der Alpenvorland-Landwirte: im Alpenvorland herrscht Grünlandwirtschaft vor, während im Tertiärhügelland auch Futtermais, Luzerne und andere zusätzliche Futterpflanzen angebaut werden. Da aber keine dieser Pflanzen zu den Selensammlerpflanzen zählt und diese Pflanzen alle relativ einheitlich den Selenbodgehalt widerspiegeln (SCHARRER und WOLFFRAM, 2005), dürfte allein aus diesem Grund im Selengehalt der Futterpflanzen kein großer Unterschied liegen. Laut HOFMANN (2005) sind Eiweißsilagen und Tiermehl (dessen Verfütterung an Rinder in Deutschland verboten ist) zwar relativ selenreicher als Gräser und Getreide, aber nur minimal und immer in Relation zum Bodenselengehalt. Konservierungsmaßnahmen (Süßlign, Trocknung, Propionsäurebehandlung) vermindern ebenfalls die Bioverfügbarkeit von Selen.

Die ziemlich deutliche Schwankung der eGSHPx-Aktivität einzelner Jahrgänge ist meines Erachtens auf die Witterung zurückzuführen. So können Pflanzen je nach Wuchs und Länge der Wachstumsphase mehr oder weniger Selen einlagern, was sich direkt auf die eGSHPx-

Aktivitäten der Pflanzenfresser auswirkt. Aus diesen Daten ist jedoch außerdem ersichtlich, dass die Selengrundversorgung durch die Futterpflanzen keine unwesentliche Rolle spielt, wenn man voraussetzt, dass die Selensupplementierung durch mineralische Futterzusätze konstant ist.

Man kann aber angesichts dieser Verteilung folgern, dass im Alpenvorland eher der Bedarf zu einer höheren Selenversorgung besteht, während die Versorgung im Tertiärhügelland als optimal zu bezeichnen ist. Die Werte machen keine Aussage darüber, ob die gute Versorgung dem natürlichen Bodenselengehalt geschuldet ist oder im Tertiärhügelland die Supplementierung zuverlässig erfolgt. Dies bedeutet allerdings auch nicht, dass Rinder aus einzelnen Betrieben nicht auch dort höchst mangelhafte eGSHPx-Aktivitäten aufweisen können.

Auch nimmt die Aussagekraft der Karten mit abnehmender Tierzahl pro Postleitzahl ab, also mit zunehmender Entfernung von und Erreichbarkeit der Klinik in Oberschleißheim. So liegen über Franken und die Oberpfalz zu wenige Daten für aussagekräftige Auswertungen vor. Die wenigen Daten deuten aber auf eine überdurchschnittliche Selenversorgung Nordbayerns hin, die diejenige im Tertiärhügelland noch übertrifft.

Auf die nach Rassen getrennte Auswertung wurde verzichtet, weil die Ergebnisse durch die für Bayern typische regionale Verteilung verfälscht würden; so ist die Rasse Braunvieh vor allem auf das Allgäu beschränkt, während in den übrigen Gebieten das Deutsche Fleckvieh dominiert. Halter von Deutschen Schwarzbunten/Holstein Friesian verteilen sich sporadisch über das ganze Gebiet. Die Zahl der übrigen Rassen ist anteilmäßig verschwindend gering.

Sehr aufschlussreich sind die Ergebnisse der Auswertung nach Altersgruppen und Geschlecht. Liegen die eGSHPx-Mediane der einzelnen Altersgruppen noch relativ nahe beieinander, wobei sich der Median von Kälbern über Jungtiere bis zu den Adulten geringfügig aber signifikant steigert, so existieren zumindest bei den Jungrindern im Alter zwischen 100 und 720 Tagen erhebliche Unterschiede zwischen den Geschlechtern innerhalb der einzelnen Altersgruppen. So lagen die weiblichen Tiere mit ihrem Median weit unter den Jungstieren, ihre Schwankungsbreite ist allerdings auch erheblich größer. Dies deutet darauf hin, dass die Tiere in der Bullenmast durchgehend gut supplementiert werden und relativ einheitliche Werte aufweisen. Große Unterschiede zwischen den Betrieben scheint es in der Aufzucht der Jungrinder zu geben. Hier herrscht eine große Streubreite und im Vergleich zur Bullenmast ein wesentlich niedrigeres Niveau. Der Median liegt jedoch auch hier noch im suffizienten Bereich, was darauf hinweist, dass Einzelbetriebe ihre Aufzucht gut supplementieren, andere höchst-

wahrscheinlich überhaupt nicht. Welche Auswirkung diese Nachlässigkeit in der Aufzucht der zukünftigen Milchkühe auf deren künftige Leistung hat, lässt sich nur schätzen. Die Milchkühe selbst werden wieder sehr gut supplementiert, jedenfalls besser als ihre männlichen Altersgenossen.

Die meisten Versuche mit Selen gingen von der Frage aus, zu welchen Symptomen Selenmangel führt oder inwiefern und ob überhaupt sich der Selenmangelstatus bzw. die eGSHPx-Aktivität verändert, wenn man verschiedene Futtermittel zufüttert. Diese Fragestellung ist sehr leicht mit einem einfachen Versuchsaufbau zu lösen, weil man den Tieren einfach Futter mit einem bestimmten Selengehalt verfüttert und dadurch genau den Selen-Input bestimmen kann.

In der vorliegenden Studie wurde von der umgekehrten Fragestellung ausgegangen: Welche Symptome oder pathologischen Faktoren sind mit einem Abfall oder Mangel von eGSHPx verbunden? Es handelt sich also nicht um einen primären oder nutritiven Selenmangel, sondern um einen sekundären Selenmangel, bei dem die eGSHPx durch Oxidantien aufgezehrt wurde und nicht wieder produziert werden konnte. Dabei bot sich die Klinik mit ihrer großen Datenfülle und auch großen Auswahl an Erkrankungen an. Erschwerend kam allerdings hinzu, dass im Grunde kein Tier, das eingeliefert wurde, gesund war und die meisten mehrere Erkrankungen gleichzeitig aufwiesen.

In der Literatur bestehen die hohen linearen Korrelationen zwischen eGSHPx-Aktivität und Vollblut-Selen-Konzentration zwischen  $r = 0,78$  und  $r = 0,92$  (SCHOLZ et al. (1981), KOLLER et al. (1984), KHAN et al. (1987), JUKOLA et al. (1996)). Die Autoren geben die eGSHPx-Aktivität als besten indirekten Marker für den Selenstatus eines Tieres an.

Als Referenzwerte in der vorliegenden Studie wurden die Werte der Firma RANDOX LABORATORIES verwendet, wobei die „Selenmangelschwelle“ für die Mediane bei 200 U eGSHPx/g Hb festgesetzt wurde, da sonst die Anzahl der Tiere, die alle Kriterien für die Auswertung erfüllten, zu klein gewesen wäre.

Dabei wurden Einzeltiere selektiert, die eine niedrige eGSHPx-Aktivität aufwiesen, aber in ansonsten selensuffizienten Beständen (Betriebsmedian  $> 200$  U eGSHPx/g Hb, mindestens drei Tiere) standen. Alle Zukaufstiere, die seit weniger als einem halben Jahr im Einkaufsbetrieb standen, wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Damit sollte sichergestellt werden, dass die eGSHPx-Aktivitäten keine Einflüsse vom vorherigen Betrieb mehr aufwiesen, was



das Ergebnis verfälschen würde. Nach WEISS et al. (1990b) benötigen die eGSHPx-Aktivitäten mehr als einen Monat, um nach Se-Applikation wieder mit den Vollblut-Selen-Konzentrationen korreliert zu sein. Mit der Mindestzahl von drei Tieren pro Betrieb sollte verhindert werden, dass einzelne Tiere eine zu große Gewichtung bekamen und den Median verfälschten. Durch die Bedingung, dass Kontrolltiere mindestens 250 U/g Hb aufweisen mussten, wurden Betriebe ausgeschlossen, deren Tiere eGSHPx-Aktivitäten in einem sehr engen Bereich um 200 U/g Hb aufwiesen.

Bei der Gruppe der „Kälber unter 100 Tagen“ wurden bei der Auswertung der klinischen Eingangsbefunde abhängig von der eGSHPx-Gruppe zusammenfassend folgende signifikante Ergebnisse erzielt: Während in der Gruppe mit einer eGSHPx-Aktivität unter 200 U/g Hb keiner der geprüften Faktoren in signifikanter Weise mit Selenmangel korrelierte, waren in der Gruppe bis 130 U/g Hb (marginal) die Merkmale „Körperhaltung“ und „Ernährungszustand“ signifikant mit Selenmangel korreliert. „Darm/Labmagen“ zeigte eine Tendenz. Daraus kann gefolgert werden, dass Kachexie zu Selenmangel führt, ebenso gravierendere Erkrankungen des Verdauungstrakts. Der Zusammenhang des Merkmals „Körperhaltung“ mit Selenmangel in vorliegender Studie ist mit hoher Wahrscheinlichkeit dadurch bedingt, dass festliegende und mattere Tiere bereits aufgrund ihres allgemeinen Krankheitsbildes Radikalfänger verstärkt verbrauchen und dies wiederum zu einer allgemeinen Lebensschwäche führt. Der Zusammenhang zwischen dem Merkmal „Körperhaltung“ und Selenmangel war auch in der Gruppe bis 100 U eGSHPx/g Hb (niedrig-marginal) noch signifikant, was für die anderen nicht mehr zutraf. In der Gruppe unter 60 U eGSHPx/g Hb (defizient) gab es einen signifikanten Zusammenhang zwischen Selenmangel und dem Merkmal „Nabel“, wobei es sich wahrscheinlich um einen durch die geringe Tierzahl begünstigtes Zufallsergebnis handelt.

In der Gruppe der „Tiere ab 100 Tagen“ waren in der Gruppe unter 200 U eGSHPx/g Hb die Merkmale „Kümmern“, „Infektionskrankheiten“ und „Virose“ (die einen Teil der Infektionskrankheiten bilden) in der univariaten Analyse signifikant. In der logistischen Regression wurde die Interaktion zwischen Kümmern und Infektionskrankheiten als signifikant bewertet. So hatten also Tiere, die unter Infektionskrankheiten litten und schon kümmerten, ein vielfach höheres Risiko, unter der gesetzten Selenmangelgrenze zu sein. „Kümmern“ war auch noch in den anderen beiden Gruppen in der univariaten Analyse signifikant. Bei den „Infektionskrankheiten“ und auch den „viral bedingten Erkrankungen“ (die ja Teil der Infektionskrankheiten sind) handelt es sich meist um schwere, meist tödlich verlaufende Erkrankungen: Bovines Katarrhalfieber, Bovine Virusdiarrhö/Mucosal Disease, Listeriose und Paratuberkulose.

Dies gilt auch für das rein klinische Merkmal „Kümmern“. Dies deutet darauf hin, dass schwerere Erkrankungen die Selenhomöostase des Organismus nachhaltig schädigen und auch daran hindern, sich wieder aufzufüllen. Das Selenoprotein-P ist der Hauptträger der Selenhomöostase, dient als wichtigstes Selen-Transportprotein und sorgt für den Selentransport aus dem Speicherorgan Leber und dem Verdauungstrakt (PERSSON MOSCHOS, 2000) in die Zellen, wo das Selen dann als Selenocystein in die verschiedenen Selenoproteine eingebaut wird. Akute Vorgänge können von einem primär suffizienten Rind noch abgepuffert werden, da der Organismus über diese Selenreserven verfügt und die Homöostase aufrechterhalten kann.

In der Gruppe der „Kälber unter 100 Tagen“ hatte bei einem gewissen Prozentsatz der Selenmangel vermutlich nichts zu tun mit dem Kalb selbst, sondern mit der Mutter, die aus irgendwelchen Gründen selendefizient wurde, weshalb das Kalb diaplazentar oder über die Milch zu wenig Selen erhielt (PEHRSON et al. 1999). Viele Kälber waren auch einfach zu jung, um selbst die erwähnten meist chronischen Krankheiten aufzubauen. Das Merkmal „Ernährungszustand“ deutet ebenso wie „Kümmern“ auf einen langwierigen Auszehrungsprozess hin, der sämtliche antioxidativen Reserven des Tieres, ob Kalb oder älteres Tier, aufbraucht. Chronischer Durchfall und Pansenazidose können durch die Verminderung der Resorption des Selens im Verdauungstrakt ebenfalls zu sekundärem Selenmangel beim Kalb führen (SCHOLZ und STÖBER, 2002a, ENJALBERT et al. 2006, HOFMANN 2005). Ersteres konnte hier bestätigt werden.

## 5 Zusammenfassung

(D. Wittmeier, 2007)

### Retrospektive Untersuchung der Erythrozyten-Glutathionperoxidase-Aktivitäten von Rinder-Patienten der Klinik für Wiederkäuer

Retrospektiv wurden fast 14.000 Erythrozyten-Glutathionperoxidase-Aktivitäten (eGSHPx) von Rinderpatienten der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim analysiert. Zum einen sollte die geographische Verteilung von Selenmangelbetrieben dargestellt werden, zum anderen untersucht werden, welche Krankheitssymptome und Krankheiten sekundär zu Selenmangel und damit zu niedrigeren eGSHPx-Aktivitäten führen.

Es existieren signifikante Unterschiede der eGSHPx-Aktivitäten der Tiere, die in verschiedenen Jahren eingeliefert wurden, was auf die unterschiedliche Witterung und dadurch unterschiedliches Pflanzenwachstum und Einlagerung von Selen in die Futterpflanzen bedingt ist. Außerdem existieren signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen und Geschlechtern: am deutlichsten war der Unterschied in der Gruppe der Jungtiere (100 bis 720 Tage), in der die weiblichen Tiere erheblich schlechter abschnitten als ihre männlichen Altersgenossen. Milchkühe schnitten wiederum besser ab als adulte Stiere.

Die in Bayern ansässigen Betriebe wurden kartographisch dargestellt. Dazu wurden die eGSHPx-Postleitzahlen-Mediane aus den Betriebsmedianen berechnet. Es handelt sich vor allem um das Gebiet Südbayern (Regierungsbezirke Schwaben, Oberbayern und Niederbayern). Aus der Karte ist ersichtlich, dass im Alpenvorland teilweise noch Selen-Supplementierungs-Handlungsbedarf besteht, während die Selenversorgung im Tertiärhügelland adäquat ist. Nur 0,59 % der Postleitzahlen-eGSHPx-Mediane waren defizient ( $< 60$  U eGSHPx/g Hb), 1,53 % der Postleitzahlen niedrig-marginal ( $\leq 100$  U eGSHPx/g Hb) und 2,59 % der Postleitzahlen marginal ( $\leq 130$  U eGSHPx/g Hb). Es gab keinerlei signifikante lineare Korrelationen zwischen eGSHPx und anderen Laborparametern. Des Weiteren wurden retrospektiv die klinischen Eingangsbefunde von Rindern verschiedener eGSHPx-Gruppen aus Betrieben mit einem Median über 200 U/g Hb analysiert. Als Kontrolltiere dienten Rinder des gleichen Bestandes mit einer eGSHPx-Aktivität über 250 U/g Hb. Es wurden zwei Altersgruppen mit mehreren eGSHPx-Gruppen gebildet, die jeweils zur Hälfte aus Selenmangeltieren und zur Hälfte aus Kontrolltieren bestanden: „Kälber unter 100 Tagen“ ( $< 200$  U/g Hb:  $n = 200$ ;  $\leq 130$  U/g Hb:  $n = 334$ ;  $\leq 100$  U/g Hb:  $n = 220$  U/g Hb;  $< 60$ :  $n = 84$ ) und „Tiere ab 100 Tagen“ ( $< 200$  U/g Hb:  $n = 226$ ;  $\leq 130$  U/g Hb:  $n = 110$ ;  $\leq 100$  U/g Hb:  $n = 70$  U/g Hb).

Signifikante Häufungen in der Selendefizienz-Gruppe resultierten in der Gruppe der „Kälber unter 100 Tagen“ in den Merkmalen „Körperhaltung“ ( $p = 0,0137$  und  $0,0355$ ), „Ernährungszustand“ ( $p = 0,0148$ ) und „Darm/Labmagen“ ( $p = 0,0327$ ). In der Gruppe der Rinder ab 100 Tagen waren die Merkmale „Kümmern“ ( $p = 0,0036$ ,  $0,0358$  und  $0,0203$ ), „Infektionskrankheiten“ (BKF, BVD/MD, Listeriose, ParaTbc) ( $p = 0,0043$ ) und „Virose“ (BKF und BVD/MD) ( $p = 0,0378$ ) signifikant. Dies deutet darauf hin, dass nur schwere, am Ende meist tödlich verlaufende Erkrankungen zu sekundärem Selenmangel führen, während akute Erkrankungen von primär selensuffizienten Rindern abgewehrt werden können, ohne in die Defizienz abzufallen. Die signifikant schlechtere „Haltung“ der Selendefizienten ist wahrscheinlich auf die Lebensschwäche, die bei erniedrigten eGSHPx-Aktivitäten auftritt, zurückzuführen.

## 6 Summary

(D. Wittmeier, 2007)

Retrospective investigation of erythrocytes glutathione peroxidase activities of cattle from the Clinic for Ruminants

Retrospectively almost 14,000 erythrocytes glutathione peroxidase (eGSHPx) activities of cattle from the clinic for ruminants of the Ludwig Maximilian University of Munich were geographically mapped. The eGSHPx is the most important indirect marker for the selenium supply of mammals.

There are significant eGSHPx activity differences between the singular years. This might be conditional upon the different weather and therefore different forage plant growth and inclusion of selenium into the plant tissues. Furthermore there are significant differences between the age-groups and sexes: the most considerable difference existed in the age-group of the heifers and young bulls (100 until 720 days). The female animals performed considerably worse than their male contemporaries. In contrast, dairy cows performed better than the adult bulls.

The postcode eGSHPx medians were worked out from the farm eGSHPx medians. The map primarily contains the region of South Bavaria (administrative districts of Swabia, Upper Bavaria, and Lower Bavaria) in Germany. From the map it can be seen that the selenium supply in the Northern Pre-Alps (as far as Munich) is marginally adequate whereas the selenium supply in the Bavarian Tertiary Hill Country (to the north of Munich until the Danube River) is adequate. Only 0.59 % of the postcodes eGSHPx medians were deficient ( $< 60$  U eGSHPx/g Hb), 1.53 % low-marginal ( $\leq 100$  U eGSHPx/g Hb) and 2.59 % marginal ( $\leq 130$  U eGSHPx/g Hb). There were no significant linear correlations between the eGSHPx activity and other laboratory parameters. Furthermore the findings of the clinical examination undertaken on admission of cattle with an eGSHPx activity under 200 U/g Hb from farms with a median above 200 U/g Hb were analysed retrospectively. Two age groups with several eGSHPx groups were constituted that were each composed half of selenium deficient and half of control animals: “Calves younger than 100 days“ ( $< 200$  U/g Hb:  $n = 200$ ;  $\leq 130$  U/g Hb:  $n = 334$ ;  $\leq 100$  U/g Hb:  $n = 220$ ;  $< 60$  U/g Hb:  $n = 84$ ) and “cattle 100 days and older“ ( $< 200$  U/g Hb:  $n = 226$ ;  $\leq 130$  U/g Hb:  $n = 110$ ;  $\leq 100$  U/g Hb:  $n = 70$ ). This procedure should guarantee that these animals did not have a primary or nutritive selenium defi-

ciency (belief: whole live stock affected by selenium deficiency) but a secondary selenium deficiency conditional upon the pathology. Significant results arose in the group of the “calves younger than 100 days“ in the parameters “posture“ ( $p = 0.0137$  and  $0.0355$ ), “nutritional condition“ ( $p = 0.0148$ ), and “intestine/abomasum“ ( $p = 0.0327$ ). Some significant results arose from the age group of “cattle 100 days and older”, namely of the parameters “runting” ( $p = 0.0036$ ,  $0.0358$ , and  $0.0203$ ), “infectious diseases” (malignant catarrhal fever, bovine virus diarrhoea/mucosal disease, listeriosis, and paratuberculosis) ( $p = 0.0043$ ), and “viral diseases” (malignant catarrhal fever and bovine virus diarrhoea/mucosal disease) ( $p = 0.0378$ ). This indicates that only severe and protracted diseases lead to secondary selenium deficiency whereas acute diseases can be rebelled by primarily selenium sufficient cattle without sinking into deficiency at once. The selenium deficient calves’ significantly worse “posture” is probably attributable to the general physical frailty due to selenium deficiency.

## 7 Literaturverzeichnis

Awadeh FT, Kincaid RL, Johnson KA. Effect of Level and Source of Dietary Selenium on Concentrations of Thyroid Hormones and Immunoglobulins in Beef Cows and Calves. *Journal of Animal Science* 1998a;76(4):1204-15.

Awadeh FT, Abdelrahman MM, Kincaid RL, Finley JW. Effect of Selenium Supplements on the Distribution of Selenium among Serum Proteins in Cattle. *Journal of Dairy Science* 1998b;81(4):1089-94.

Bayerisches Geologisches Landesamt. Hintergrundwerte Selen (Se) – Oberboden – große Ansicht. 1998.

<http://www.geologie.bayern.de/boden/hintergrundwerte/hintergrundwerte.html?containerId=1822&detail=Oberboden>, Letzter Zugriff: 01.03.2007.

Beckett GJ, Beddows SE, Morrice PC, Nicol F, Arthur JR. Inhibition of hepatic deiodination of thyroxin is caused by selenium deficiency in rats. *The Biochemical Journal* 1987;248(2):443-7.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Glutathionperoxidase. In: Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemie*. 5. Auflage Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 2003;754-755.

Black DH, French NP. Effects of three types of trace element supplementation on the fertility of three commercial dairy herds. *The Veterinary Record* 2004;154(21):652-8.

Brockhaus Enzyklopädie. Selen. In: *Brockhaus-Enzyklopädie*, 24 Bände. 20. Aufl. Mannheim: Brockhaus Verlag 1999.

Brzezińska-Slebodzińska E, Miller JK, Quigley JD III, Moore JR, Madson FC. Antioxidant Status of Dairy Cows Supplemented Prepartum with Vitamin E and Selenium. *Journal of Dairy Science* 1994;77(10):3087-95.

Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein Metabolism and Function: Evidence for More than One Function for Selenoprotein P. *The Journal of Nutrition* 2003;133(5Suppl1):1517S-20S.

Chenoweth PJ, Sanderson MW. Health and Production Management in Beef Cattle Breeding Herds. In: Radostitis O. *Herd Health - Food animal production medicine*. 3rd ed.:2001.

Enjalbert F, Lebreton P, Salat O, Schelcher F. Effects of Pre- or Postpartum Selenium Supplementation on Selenium Status in Beef Cows and Their Calves. *Journal of Animal Science* 1999;77(1):223-9.

Enjalbert F, Lebreton P, Salat O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2006;90(11-12):459-66.

Gerloff BJ. Dairy Cattle Nutrition. In: Radostitis O. *Herd Health - Food animal production medicine*; 3rd ed.: 2001;441.

Gunter SA, Beck PA, Phillips JK. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *Journal of Animal Science* 2003;81(4):856-64.

Hafner A, Dahme E. Skelettmuskel: Diätetische Myopathien. In: Dahme E, Weiss E. *Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*. 5. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag 1999;352.

Hill KE, Zhou J, McMahan WJ, Motley AK, Atkins JF, Gesteland RF, Burk RF. Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. *The Journal of Biological Chemistry* 2003;278(16):13640-6.

Hofmann W. Selenmangel. In: Hofmann W. *Rinderkrankheiten - Innere und chirurgische Erkrankungen*. 2. Aufl. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 2005;445-456.

Hogan JS, Smith KL, Weiss WP, Todhunter DA, Schockley WL. Relationships among Vitamin E, Selenium and Bovine Blood Neutrophils. *Journal of Dairy Science* 1990;73:2372-2378.



Ivancic J, Ivancic J Jr., Weiss WP. Effect of Dietary Sulfur and Selenium Concentrations on Selenium Balance of Lactating Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 2001;84:225-232.

Jeroch H, Drochner W, Simon O. Selen. In: Jeroch H, Drochner W, Simon O. *Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere*. 1. Aufl. Stuttgart: UTB für Wissenschaft, 1999a;91-92.

Jeroch H, Drochner W, Simon O. Körner und Samen. In: Jeroch H, Drochner W, Simon O. *Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere*. 1. Aufl. Stuttgart: UTB für Wissenschaft, 1999b;202.

Jeroch H, Drochner W, Simon O. Zusatzstoffe ohne Nährstoffcharakter. In: Jeroch H, Drochner W, Simon O. *Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere*. 1. Aufl. Stuttgart: UTB für Wissenschaft, 1999c;261.

Jones TC, Hunt RD, King NW. Diseases due to extraneous poisons: Selenium. In: Jones TC, Hunt RD, King NW. *Veterinary pathology*. 6th ed.: 1997;729-731.

Jones TC, Hunt RD, King NW. Nutritional deficiencies: Vitamin E. In: Jones TC, Hunt RD, King NW. *Veterinary pathology*. 6th ed.:1997;788-791.

Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi H, Sankari S. Blood Selenium, Vitamin E, Vitamin A, and  $\beta$ -Carotene Concentrations and Udder Health, Fertility Treatments, and Fertility. *Journal of Dairy Science* 1996;79(5):838-45.

Kamphues J, Coenen M, Kienzle E, Pallauf J, Simon O, Zentek J. Allgemeines zur Tierernährung - Möglichkeiten zur Beurteilung von Futter und Fütterung (inkl. der Wasserversorgung) sowie der Energie- und Nährstoffversorgung: Untersuchung körpereigener Substrate. In: Kamphues J, Coenen M, Kienzle E, Pallauf J, Simon O, Zentek J Hrsg. *Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung*. 10. Aufl. Alfeld-Hannover: Verlag M. & H. Schaper 2004;180.

Khan AA, Lovejoy D, Sharma AK, Sharma RM, Prior MG, Lillie LE. Effects of High Dietary Sulphur on Enzyme Activities, Selenium Concentrations and Body Weights of Cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research* 1987;51(2):174-80.

Knowles SO, Grace ND, Wurms K, Lee J. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *Journal of Dairy Science* 1999;82(2):429-37.

Koller LD, South PJ, Exon JH, Whitbeck GA, Maas J. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1984;48(4):431-3.

Linus Pauling Institute's Micronutrient Information Center's web site. Selenium. 2003. Adresse: <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/selenium>. Letzter Zugriff: 27.02.2007.

Malbe M, Attila M, Atroshi F. Possible involvement of selenium in Staphylococcus aureus inhibition in cow's whey. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2006;90 (3-4):159-64.

Martin W, Suttner T, Außendorf M. Bodenschutz in Bayern – Hintergrundwerte anorganischer Schadstoffe in den Böden Bayerns. 1999. Adresse: <http://www.geologie.bayern.de/boden/hintergrundwerte/anorganischeHintergrundwerte/landschaftseinheiten/1813.html>. Letzter Zugriff: 27.02.2007.

Miller JK, Brzezińska-Slebodzińska E, Madsen FC. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function. *Journal of Dairy Science* 1993;76:2812-2823.

Orr JP, Blakley BR. Investigation of the selenium status of aborted calves with cardiac failure and myocardial necrosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1997;9(2):172-9.

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1967;70(1):158-69.

Panousis N, Roubies N, Karatzias H, Frydas S, Papasteriadis A. Effect of selenium and vitamin E on antibody production by dairy cows vaccinated against *Escherichia coli*. *The Veterinary Record* 2001;149(21):643-6.

Pehrson B, Ortman K, Madjid N, Trafikowska U. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of suckler cows and on the selenium status of their calves. *Journal of Animal Science* 1999;77(12):3371-6.

Persson Moschos M. Selenoprotein P. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2000;57(13-14):1836-45.

Podoll KL, Bernard JB, Ullrey DE, DeBar SR, Ku PK, Magee WT. Dietary selenate versus selenite for cattle, sheep and horses. *Journal of Animal Science* 1992;70(6):1965-70.

Radox Laboratories Ltd. RANSEL Glutathione Peroxidase – Technical Brief. 1996;1-2.

Rowntree JE, Hill GM, Hawkins DR, Link JE, Rincker MJ, Bednar GW, Kreft RA Jr. Effect of Se on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *Journal of Animal Science* 2004;82(10):2995-3005.

Sachs L. Weitere Prüfverfahren: Die Häufigkeit von Ereignissen. In: Sachs L *Angewandte Statistik – Anwendung statistischer Methoden*. 9. Auflage: Springer Verlag 1999;449.

Saito Y, Takahashi K. Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein. *European Journal of Biochemistry* 2002;269(22):5746-51.

Schäfer M. Vitamine: Vitamin E. In: Frey H-H, Löscher W Hrsg. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 2. Auflage Stuttgart: Enke Verlag 2002;512.

Scharrer E, Wolfram S. Funktionen des Dünndarms und seiner Anhangsdrüsen: Resorption von Spurenelementen. In: von Engelhardt W, Breves G Hrsg. *Physiologie der Haustiere*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag 2005;404.

Scholz H, Stöber M. Mangel-, vergiftungs- und haltungsbedingte Krankheiten der Bewegungsorgane: Enzootische Myodystrophie des präuminanten Kalbes. In: Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M Hrsg. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 4. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag 2002a;1000-1004.

Scholz H, Stöber M. Mangel-, vergiftungs- und haltungsbedingte Krankheiten der Bewegungsorgane: Überlastungsmiopathie, Paralytische Myoglobininurie des ruminanten Rindes. In: Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M Hrsg. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 4. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag 2002b;1000-1004.

Scholz RW, Todhunter DA, Cook LS. Selenium content and glutathione peroxidase activity in tissues of young cattle fed supplemented whole milk diets. *American Journal of Veterinary Research* 1981;42(10):1718-23.

Straif D, Werz O, Kellner R, Bahr U, Steinhilber D. Glutathione peroxidase-1 but not -4 is involved in the regulation of cellular 5-lipoxygenase activity in monocytic cells. *Biochemical Journal* 2000;349(Pt2):455-61.

Symonds HW, Mather DL, Vagg MJ. The excretion of selenium in bile and urine of steers: the influence of form and amount of Se salt. *British Journal of Nutrition* 1981;46(3):487-493.

Vaisberg CN, Jelezarsky LV, Dishlianova B, Chaushev TA. Activity, substrate detection and immunolocalization of glutathione peroxidase (GPx) in bovine reproductive organs. *Theriogenology* 2005;64(2):416-428.

Walsh DM, Kennedy S, Blanchflower WJ, Goodall EA, Kennedy DG. Vitamin E and selenium deficiencies increase indices of lipid peroxidation in muscle tissues of ruminant calves. *Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung* 1993;63(3):188-94.

Weiß J. Grundlagen der Tierernährung: Weitere Spurenelemente - Selen. In: *Tierproduktion*. 2005;172.

Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH. Relationships among Selenium, Vitamin E, and Mammary Gland Health in Commercial Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* 1990a;73(2):381-90.

Weiss WP, Todhunter DA, Hogan JS, Smith KL. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1990b;73(11):3187-94.

## 8 Lebenslauf

Geboren am 27. Dezember 1977 in Augsburg

Eltern:               Xaver Wittmeier, Bankkaufmann

Gerda Wittmeier, geb. Oehler, Versicherungskauffrau

1984 - 1988        Grundschule Thierhaupten (Landkreis Augsburg)

1988 - 1997        Maria-Ward-Gymnasium in Augsburg, neusprachlicher Zweig

1997                Abitur

1997 - 1999        Ausbildung zur Tierarzhelferin in der Tierärztlichen Praxis Frauke Petra Dreyssig in Ehekirchen (Landkreis Neuburg-Schrobenhausen)

1999 - 2005        Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

2005                Approbation als Tierärztin

2005 - 2007        Internship-Äquivalent und Dissertation in der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der LMU München

seit Juli 2007     Assistentztierärztin in der Tierärztlichen Praxis Dr. Christian Strauß in Affing-Bergen (Landkreis Aichach-Friedberg)

## 9 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Klee danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und seine uneingeschränkte Unterstützung und Beratung bei der Durchführung und Fertigstellung meiner Arbeit. Auch kurzfristig konnte ich mich jederzeit an ihn wenden.

Mein herzlichster Dank gilt meinen Eltern, die mir während der ganzen Zeit zur Seite gestanden haben und mich immer unterstützt haben. Ohne sie wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Ganz besonders danke ich Frau Dr. Ingrid Lorenz für die Betreuung und Unterstützung bei der Entwicklung und Ausfertigung meiner Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Carola Sauter-Louis, die mir jederzeit als Beraterin zur Seite stand. Sie half mir, die Arbeit zu Ende zu führen und leistete außerdem wertvolle Hilfe in allen Fragen der Statistik und Informatik. Auch außerhalb der Arbeitszeiten war sie jederzeit erreichbar.

Meinem Bruder Sebastian danke sehr herzlich für die Berechnung der Mediane und die Erstellung von Formeln, ohne die ich meine Daten nicht so schnell hätte bearbeiten können.

Desweiteren gilt mein Dank den beiden Medizinisch-technischen Laborassistentinnen Frau Ingrid Hartmann und Frau Christina Beyer, die mir die Labortechnik und Vorgehensweise der Glutathionperoxidase-Bestimmung erklärt haben und wertvolle Unterlagen zur Verfügung gestellt haben.