

Untersuchungen zum Blutplasmagehalt an Carnitin und Lipiden in der Rossezeit der Stute

Hans Christian Meisinger¹, Karl Elze¹ † und Hermann Seim² †

Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig¹ und Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Klinikum der Universität Leipzig²

Zusammenfassung

Während der Rosse bis zur Ovulation wurden 12 Haflinger- und 14 Warmblutstuten in die Untersuchungen einbezogen. Die höchste Carnitinkonzentration wurde bei den Warmblutstuten (30,8 μmol Gesamtcarnitin/l, 26,8 μmol freies Carnitin/l) und bei den Haflingerstuten (20,6 μmol Gesamtcarnitin/l; 17,7 μmol freies Carnitin/l) im Zeitraum 24 Stunden vor bis 48 Stunden nach der Ovulation gemessen. Die Carnitinkonzentration stieg signifikant innerhalb der Rossezeit von niedrigen Werten (Warmblutstuten 23,8 μmol Gesamtcarnitin/l, 21,1 μmol freies Carnitin/l; Haflingerstuten 18,5 μmol Gesamtcarnitin/l, 14,05 μmol freies Carnitin/l) am 3./ 4. Rossetag zu den Maximalwerten im o.g. Zeitraum an. Die Carnitinwerte zeigen bei den Warmblut- und bei den Haflingerstuten bis zur Hochrosse und Ovulation einen deutlichen Anstieg. Während der Rosse besteht eine gesicherte positive Korrelation zwischen Carnitin und der Follikelkonsistenz. Das Verhalten der Carnitinkonzentration im Rosseverlauf und das hohe Niveau der Carnitinkonzentration im Zeitraum 24 Stunden vor bis 48 Stunden nach der Ovulation kann im Zusammenhang mit dem Rückgang der Konzentrationen der Triglyceride und der freien Fettsäuren während der Rosse als Widerspiegelung des funktionellen Carnitinbedarfes als Voraussetzung für die kurzfristig erforderliche Energiegewinnung durch die β -Oxidation und die Bereitstellung von Acetylgruppen für die Follikel- und Eizellreifung sowie für den Gesamtorganismus gewertet werden. Die Carnitinkonzentration lag bei den Haflingerstuten auf einem um 9 $\mu\text{mol/l}$ signifikant niedrigeren Niveau als bei den Warmblutstuten.

Schlüsselwörter: Pferd, Carnitin, Rosse, Fettstoffwechsel

Examination of the blood plasma content of Carnitine and lipids during oestrus of mares

The study was based on a total of 19 Haflinger mares and 14 warm-blooded mares from the period of oestrus until ovulation. The highest carnitine concentrations were measured on the warm-blooded mares (30.8 μmol total carnitine/l, 26.8 μmol free carnitine/l) and on the Haflinger mares (20.6 μmol total carnitine/l, 17.7 μmol free carnitine/l) over a period of 24 hours before and up to 48 hours after ovulation. The carnitine concentration rose significantly while the mare was on oestrus; from low values (warm-blooded mares 23.8 μmol total carnitine/l, 21.1 μmol free carnitine/l; Haflinger mares 18.5 μmol total carnitine/l, 14.05 μmol free carnitine/l) on the 3rd and 4th day up to the maximum values of the above mentioned time period. In the case of the warm-blooded and the Haflinger mares, the carnitine values reveal a clear increase right up to the maximum point during oestrus and during ovulation. During oestrus there is a significant positive correlation between the carnitine and the follicle consistency. The profile of the carnitine concentration during the time when the mare is on oestrus and the high level of carnitine concentration during a period of 24 hours before to 48 hours after ovulation is to be seen in the context of the drop in the triglyceride concentration and the concentration of the free fatty acids while the mare is on oestrus which reflect the functional carnitine requirements for the maturation of the follicles and the ovum and for the covering of the short-term energy requirements of the β oxidation as well as for provision of the acetyl groups. The carnitine concentration of the Haflinger mares is –9 $\mu\text{mol/l}$ less significantly lower than that of the warm-blooded mares

Keywords: horse, carnitine, oestrus, lipid metabolism

Einleitung

L-Carnitin ist ein Betain. Das Molekül weist eine Zwitterionenstruktur auf, bei der die Entfernung zwischen der positiven und negativen Ladung dieselbe ist wie beim Lecithin. Acyliertes Carnitin kann leicht durch Lipidmembranen translozieren. Damit erklärt sich biochemisch eine Hauptfunktion von Carnitin, die Einschleusung von aktivierten Fettsäuren in die Mitochondrienmatrix durch das Malonyl-CoA regulierte Carnitintransportsystem. Die Fettsäuren gelangen so zur energetischen Verwertung in den mitochondrialen Matrixraum, der Lokalisation der β -Oxidation. Auf gleiche Weise erfolgt der

Transport des Adenosintri-phosphats zurück ins Cytosol durch die Adeninnukleotidtranslokase. Daneben ist Carnitin als Acetylpuffer bzw. Acetylspeicher durch Regeneration von freiem CoA wesentlich an der Stabilisierung des intramitochondrialen Verhältnisses von Acyl-CoA zu freiem CoA beteiligt. Von diesen Erkenntnissen ausgehend wurde und wird beim Menschen die klinische Bedeutung von Carnitin intensiv untersucht.

Die wissenschaftliche Bearbeitung der Bedeutung des L-Carnitins im Energie- und Fettstoffwechsel der Zellen und des Organismus hat aus klinischer Sicht sowie aus Gründen der

Leistungssicherung in den letzten Jahren auch in der Veterinärmedizin breiteren Fuß gefasst.

Bei Schwein (Litz 1993, Kaiser 1997, Baumgartner und Blum 1997), Fischen (Litz 1993, Stavros et al. 1995) und Geflügel (Leibetseder 1995, Richter et al. 1997) stehen Fragestellungen der Lebendmassezunahme und der Futterverwertung im Vordergrund des Interesses. Bei der Katze sind es die Gewichtsreduktion bei Adipositas (Armstrong et al. 1992), beim Hund neben Herzerkrankungen (Neu 1995, Neu et al. 1997) auch die Muskelleistung (Dubelaar et al. 1991), beim Rind die Ketoseprophylaxe (Erfle et al. 1970; Teufel et al. 1998) und bei Pferden die Muskelleistung und die Carnitinversorgung des Fohlens (Foster und Harris 1987, Foster et al. 1988, 1989a, Benamou und Harris 1993; Zeyner 1996; Zeyner und Harmeyer 1999) sowie die Verbesserung der Spermio-genese (Herfen et al. 1997, Wyss et al. 1997).

Vom Menschen (Genger et al. 1988), Schwein (Wittek et al., 1999) und Pferd (Bruscato et al. 1991) liegen aber auch schon Untersuchungsergebnisse und Informationen über die Dynamik des Carnitingehaltes im Blutserum bzw. Blutplasma während der Reproduktionsphasen vor.

Neben einerseits positiven (Herfen et al. 1997) und andererseits negativen (Wyss et al. 1997) Aussagen über die Ergebnisse einer oralen Carnitinsubstitution bei Hengsten mit der Zielstellung einer Verbesserung der Spermio-genese und der Qualität des Ejakulats wiesen 1991 Bruscato et al. erstmalig auf mögliche Beziehungen zwischen dem Blutserum-Carnitin-Gehalt und dem Follikelwachstum während der Rosse hin. Für den hohen Energiebedarf in den Granulosa- und Thekaluteinzellen während des Reifungsprozesses der Follikel und bei der Ovulation ist eine gesicherte Zufuhr von Carnitin für die Aktivierung langkettiger freier Fettsäuren zu ihren CoA-Verbindungen und damit der oxidativen Verwertung der Fettsäuren unerlässlich.

Das Ziel vorliegender Untersuchungen war das Profil der Dynamik des Blutplasmagehaltes an L-Carnitin, an den Lipiden Cholesterol (gesamt), HDL-Cholesterol und Triglyceriden, Phospholipiden und Freien Fettsäuren im Rossezeitraum zu ermitteln und das Bestehen von Beziehungen zwischen der Dynamik des L-Carnitingehaltes im Blutplasma und den klinischen Parametern Rosseverhalten, Vaginalbild, Follikelgröße und Follikelkonsistenz, dem Blutserumgehalt an Estradiol-17 β und Progesteron sowie dem Blutplasmagehalt von Cholesterol (gesamt), HDL-Cholesterol, Triglyceriden, Phospholipiden und freien Fettsäuren während des Rossezeitraumes festzustellen.

Patientengut und Methoden

In die Untersuchung wurden im Zeitraum von 1995 bis 1998 12 Haflingerstuten und 14 Warmblutstuten einbezogen. Die Warmblutstuten stammten aus dem sächsischen und dem thüringischen Pferde-zuchtgebiet. Die Haflingerstuten kamen aus dem thüringischen Zuchtgebiet.

Die Ausprägung der äußeren Rossesymptome, die Vaginal- und Zervixbilder, die Follikelgröße und die Follikelkonsistenz wurden bei den Stuten erfasst. Die Haflingerstuten waren

anhand des Vorberichtes als klinisch gesund anzusehen. Die Warmblutstuten wurden nach dem Vorbericht und dem negativen bakteriologischen Zervix-tupferbefund als klinisch genitalgesund eingeschätzt.

Bei den Stuten wurden im Rahmen der Gesundheitsüberwachung Blutproben zur Bestimmung der Parameter Carnitin, Cholesterol (gesamt), HDL-Cholesterol, Phospholipide, Triglyceride, Freie Fettsäuren, Estradiol-17- β und Progesteron entnommen.

Während der Rosse wurden den Haflingerstuten je 3 Blutproben entnommen. Der Zeitraum zwischen den einzelnen Untersuchungen und Probenahmen betrug ca. 48 Stunden. Eine weitere Blutentnahme erfolgte zwischen 7. und 9. Tag nach der letzten Belegung.

Bei den Warmblutstuten wurden während der Follikelreifung 1 bis 2 Blutproben und nach der Ovulation 1 Blutprobe entnommen. Der Abstand zwischen den Untersuchungen betrug auch hier ca. 48 Stunden. Die Konzeptionsergebnisse wurden ermittelt. Das Blut wurde aus der Vena jugularis in 10ml-EDTA-Röhrchen und Serumröhrchen entnommen. Nach der Entnahme wurden die Blutproben innerhalb einer Stunde bei 4000 U/ min vor Ort zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma bzw. Serum entweder direkt eingefroren oder gekühlt transportiert und spätestens nach 4 Stunden eingefroren. Die Proben wurden bis zur Laboruntersuchung bei -21°C gelagert.

Die Carnitinbestimmung erfolgte mittels der enzymatisch-radiochemischen Methode nach Cederblad und Lindstedt (1972), modifiziert nach Seim et al. (1993). Die Carnitin-Acetyltransferase überträgt radiochemisch markierte Acetylgruppen von CoA auf Carnitin. Das freiwerdende CoA wird durch Bindung an N-Ethylmaleinimid der Reaktion entzogen. Das überschüssige Acetyl-CoA wird an das Ionenaustauscherharz DOWEX gebunden und durch Zentrifugation entfernt. Die Meßgröße ist die im Flüssig-Szintillationsspektrometer gemessene Radioaktivität.

Die Bestimmung der Parameter des Lipidstatus erfolgte im Zentrallaboratorium des Instituts für klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums der Universität Leipzig. Für die Bestimmung von Cholesterol, Phospholipiden, Triglyceriden und Freien Fettsäuren wurden Diagnostiktests der Firma Boehringer Mannheim verwendet. Die Bestimmung von HDL-Cholesterol erfolgte mittels Präzipitationstest der Firma Immuno AG Wien.

Die Hormongehalte an Estradiol-17 β und Progesteron wurden über Immunoassays in der Gemeinschaftspraxis von Dr. med. G. Reising-Ackermann und Dr. Fichtner, Leipzig ermittelt.

Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 8. für Windows 6.1. Die Prüfung auf Normalverteilung mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test ergab, dass überwiegend keine Normalverteilung des Datenmaterials vorlag. Es wurden die statistischen Lageparameter, arithmetisches Mittel und Standardabweichung sowie Median und 1. und 3. Quartil berechnet. Unterschiede der Messwerte wurden mit dem U-Test nach Mann und Whitney bei unab-

hängigen Stichproben und Wilcoxon-Test bei abhängigen Stichproben (Verlaufsuntersuchungen) untersucht. Für die Berechnung der Korrelationen wurde der Spearman Rank Order Correlation Test verwendet. Die Unterschiede wurden wie folgt charakterisiert:

- p<0,05 signifikanter Unterschied
- p<0,01 hoch signifikanter Unterschied

Für die Korrelationen gelten als Grenzen die gleichen Werte für p wie für die Beschreibung signifikanter Unterschiede.

Ergebnisse

Haflingerstuten

Die Konzentrationen von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin in der Rosse und 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung werden in Abbildung 1 wiedergegeben.

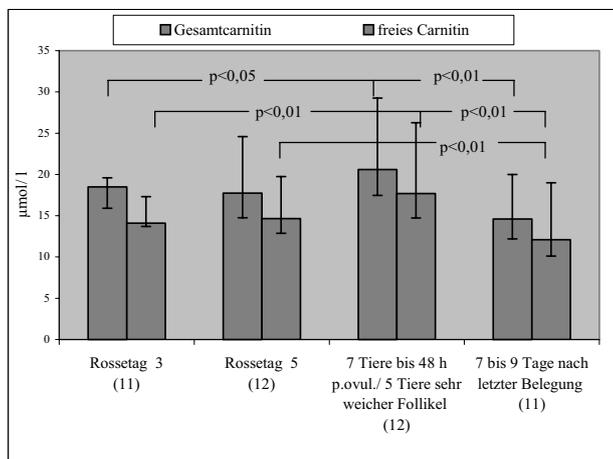


Abb 1 Signifikante Differenzen der Messwerte (Median) der Konzentration von Carnitin im Blutplasma von Haflingerstuten während der Rosse und 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung (n, 1. Quartil, T 3. Quartil).
Significantly differences of measure values of carnitine in blood plasma of Haflinger mares during oestrus and 7 to 9 days after last covering (n, 1. Quartil, T 3. Quartil).

Die Konzentrationen von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin steigen vom Rossetag 3 zum Rossetag 7 an. Der Unterschied zwischen den Konzentrationen ist bei Gesamtcarnitin signifikant (p<0,05) und bei freiem Carnitin hoch signifikant (p<0,01). Bei der höchsten Carnitinkonzentration von 20,60 µmol/l Gesamtcarnitin und 17,70 µmol/l freiem Carnitin sind bei 5 Stuten Follikel mit weicher oder sehr deutlicher, noch etwas gespannter Fluktuation tastbar. Bei 7 Stuten wurde ein frisch ausgelaufener Follikel palpirt. Bei der 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung entnommenen Blutprobe wurde ein markanter Rückgang der Konzentrationen von Gesamtcarnitin auf 14,6 µmol/l und freiem Carnitin auf 12,10 µmol/l deutlich. Dieser Rückgang ist hoch signifikant (p<0,01). Die Konzentrationen der Parameter des Fettstoffwechsels sind in der Tabelle 1 dargestellt. Die Cholesterolkonzentration sinkt während der Rosse ab und steigt zwischen 7. und 9. Tag nach der letzten Belegung wieder an. Die Differenz zwischen der Konzentration am Rossetag 3 und der Konzentration am Rossetag 7 ist hoch signifikant (p<0,01).

Die HDL-Cholesterolkonzentration unterliegt zwischen 3., 5. und 7. Tag der Rosse nur geringen Schwankungen. Im Zeitraum zwischen 7. und 9. Tag nach der letzten Belegung ist die HDL-Konzentration signifikant gesunken (p<0,05). Darüber hinaus bestehen hoch signifikante Differenzen (p<0,01) zwischen der Konzentration an den Rossetagen 3 und 5 zu der Konzentration zwischen 7. und 9. Tag nach der letzten Belegung.

Die Triglyceridkonzentration sinkt vom 3. Rossetag über den 5. Rossetag bis zum 7. Rossetag signifikant (p<0,05) ab. Im Zeitraum 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung erfolgt dann ein hoch signifikanter Anstieg (p<0,01).

Während der drei Probennahmezeitpunkte am 3., 5. und 7. Rossetag schwankt die Konzentration der Phospholipide nur gering. Die Konzentration steigt 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung an. Es existieren keine signifikanten Differenzen zwischen den Konzentrationen an den einzelnen Tagen.

Tab 1 Konzentration ausgewählter Parameter des Fettstoffwechsels im Blutplasma von Haflingerstuten während der Rosse und 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung in mmol/l.
Concentration of an choice of parameter of lipid metabolism in blood plasma of Haflinger mares during oestrus and 7 to 9 days after last covering in mmol/l.

Entnahmen	statistische Maßzahlen	Cholesterol (gesamt)	HDL-Cholesterol	Triglyceride	Phospholipide	Freie Fettsäuren
1 Rossetag 3	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1-3.Quartil)	(11) 1,99 ± 0,50 1,76 (1,64-2,45)	(11) 1,21 ± 0,22 1,15 (1,07-1,34)	(11) 0,21 ± 0,13 0,19 (0,11-0,29)	(11) 1,80 ± 0,52 1,61 (1,35-2,30)	(11) 0,09 ± 0,09 0,06 (0,03-0,15)
2 Rossetag 5	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1-3.Quartil)	(12) 1,94 ± 0,44 1,74 (1,61-2,36)	(12) 1,21 ± 0,21 1,20 (1,06-1,39)	(12) 0,17 ± 0,12 0,16 (0,01-0,29)	(12) 1,76 ± 0,34 1,71 (1,48-2,04)	(12) 0,05 ± 0,04 0,04 (0,01-0,07)
3 Rossetag 7	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1-3.Quartil)	(12) 1,83 ± 0,52 1,68 (1,36-2,25)	(12) 1,18 ± 0,29 1,17 (1,01-1,37)	(12) 0,15 ± 0,09 0,13 (0,08-0,18)	(12) 1,65 ± 0,4 1,66 (1,25-1,93)	(12) 0,02 ± 0,01 0,02 (0,01-0,02)
4 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1-3.Quartil)	(11) 1,96 ± 0,67 2,13 (1,95-2,33)	(11) 0,92 ± 0,10 0,91 (0,85-0,98)	(11) 0,30 ± 0,19 0,25 (0,20-0,29)	(11) 1,95 ± 0,48 2,03 (1,64-2,32)	keine Werte
Signifikanz zwischen den Entnahmen		1:3	1,2;3:4	1:3 und 2;3:4	n.s.	1,2:3

n.s. = p < 0,05, nicht signifikant
1:2 = 1 signifikant (p < 0,05) verschieden von 2
n = Anzahl der Tiere
± s = arithmetischer Mittelwert ± Standardabweichung

Vom Rossetag 3 über den Rossetag 5 bis zum Rossetag 7 fällt die Konzentration der freien Fettsäuren im Blut ab. Die Differenz zwischen den Konzentrationen der freien Fettsäuren am 5. und 7. Rossetag ist signifikant (p<0,05). Die Differenz zwischen den Konzentrationen am 3. und 7. Rossetag ist hoch signifikant (p<0,01). Am Rossetag 3 besteht eine gesicherte positive Korrelation (rs=0,62; p<0,05) zwischen verestertem Carnitin und den freien Fettsäuren.

Die Estradiolkonzentration (Medianwert) liegt am Rossetag 3 bei 70,3 nmol/ l. Am Rossetag 5 hat sie sich kaum vermindert und liegt bei 70,1 nmol/ l. Zum dritten Entnahmezeitpunkt in der Rosse haben 7 Stuten bereits ovuliert und 5 Stuten sind kurz vor der Ovulation. Die Estradiolkonzentration (Median) ist auf 64,5 nmol/ l gesunken.

Die Konzentration (Medianwert) des Progesterons liegt bei den ersten beiden Entnahmen in der Rosse zwischen 1,3 und 1,55 nmol/ l. Am Rossetag 7 ist sie auf 6,85 nmol/ l angestiegen. Die Differenz zwischen der Konzentration am Rossetag 7 und der Konzentration am Rossetag 5 bzw. 3 ist hoch signifikant ($p < 0,01$).

Während der Rosse bestehen gesicherte positive Korrelationen von freiem Carnitin ($r_s = 0,40$; $p < 0,01$) und Gesamtcarnitin ($r_s = 0,35$; $p < 0,05$) zu Progesteron.

Am Rossetag 7 ist bei 7 Stuten ein frisch ausgelaufener Follikel palpatorisch erfassbar. Bei 5 Stuten haben die Follikel eine Größe von durchschnittlich 4-5 cm erreicht und weisen eine weiche Fluktuation auf. Ihr Rosseverhalten ist durch eine weiterhin sehr deutliche Ausprägung der Rosse-symptomatik gekennzeichnet. Die 5 Stuten werden wegen der Untersuchungen entgegen dem üblichen Betriebsmanagement nach 48 Stunden noch einmal dem Hengst vorgestellt, alle hatten zwischenzeitlich ovuliert und zeigten keine Duldung mehr.

Diese Tiere werden mit den 7 Stuten, die bei der Untersuchung am Rossetag 7 frisch ovuliert hatten, in einer Gruppe von Tieren 24 Stunden vor bis 48 Stunden nach der Ovulation zusammengefasst. Zwischen der Gesamtcarnitinkonzentration und der Follikelkonsistenz ist während der Rosse eine positive Korrelation nachweisbar ($r_s = 0,50$; $p < 0,01$). Auch zwischen der Konzentration von freiem Carnitin und der Follikelkonsistenz existiert während der Rosse eine positive Korrelation ($r_s = 0,57$; $p < 0,01$).

Warmblutstuten

Zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung der Stuten am 3. bzw. 4. Tag der Rosse liegt der Medianwert der Konzentration des Gesamtcarnitins bei 23,8 $\mu\text{mol/ l}$ und des freien Carnitins bei 21,1 $\mu\text{mol/ l}$. Im Fortgang der Rosse steigen die Konzentrationen von Gesamtcarnitin auf 30,8 $\mu\text{mol/ l}$ und von freiem Carnitin auf 26,8 $\mu\text{mol/ l}$ am 5./ 6. Rossetag an. Am Rossetag 7./ 8. (dem Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation) beträgt der Medianwert der Konzentrationen des Gesamtcarnitins 28,7 $\mu\text{mol/ l}$ und des freien Carnitins 27,2 $\mu\text{mol/ l}$. Die Differenzen zwischen den Konzentrationen am 3./ 4. Rossetag und am 5./ 6. Rossetag sind bei Gesamtcarnitin und beim freien Carnitin signifikant ($p < 0,05$). Der Verlauf der Carnitinkonzentration ist in Abbildung 2 dargestellt.

Das Verhalten der untersuchten Parameter des Fettstoffwechsels gibt Tabelle 2 wieder. Die Cholesterolkonzentration steigt vom 3./ 4. Rossetag bis zum 7./ 8. Rossetag, dem Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation, an. Die Konzentrationen von HDL-Cholesterol und den Phospholipiden sind im Untersuchungszeitraum kaum Schwankungen unterworfen. Die Triglyceridkonzentration (Medianwerte) nimmt vom 3./ 4. Ros-

setag zum 5./ 6. Rossetag ab und steigt dann am 7./ 8. Rossetag, dem Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation, wieder an. Zwischen der Konzentration des Gesamtcarnitins und der Konzentration der Triglyceride besteht eine gesicherte negative Korrelation während der Rosse ($r_s = -0,48$; $p < 0,01$). Zur Konzentration des freien Carnitins korreliert die Triglyceridkonzentration ebenfalls gesichert negativ ($r_s = -0,37$; $p < 0,05$). Zwischen der Konzentration von verestertem Carnitin und der Triglyceridkonzentration existiert während der Rosse eine gesicherte positive Korrelation ($r_s = 0,41$; $p < 0,01$).

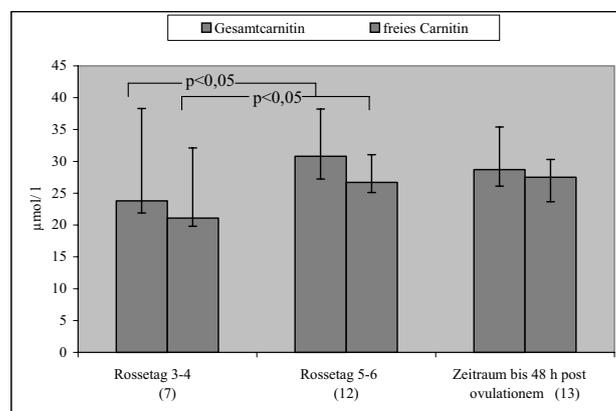


Abb 2 Signifikante Differenzen der Messwerte (Median) von Carnitin im Blutplasma von Warmblutstuten während der Rosse (n , \pm 1. Quartil, T 3. Quartil).

Significantly differences of measure values of carnitine in blood plasma of warm-blooded mares during oestrus (n , \pm 1. Quartil, T 3. Quartil).

Die Konzentration (Medianwert) des Estradiols-17 β liegt am 3./ 4. Rossetag bei 140 pmol/ l. Sie steigt am 5./ 6. Rossetag auf 195 pmol/ l. Am 7./ 8. Rossetag, dem Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation, ist sie wieder auf 140 pmol/ l gesunken.

Die Konzentration des Progesterons (Medianwerte) liegt bei den beiden Probenahmen vor der Ovulation bei etwa 1,8 nmol/ l. Nach der Ovulation ist sie auf 8,4 nmol/ l angestiegen. Die Differenzen zwischen der Konzentration nach der Ovulation und der Konzentration am 3./ 4. Rossetag und am 5./ 6. Rossetag sind signifikant ($p < 0,05$). Am 7./ 8. Rossetag bestehen positive Korrelationen zwischen Gesamtcarnitin und Progesteron ($r_s = 0,66$, $p < 0,01$) sowie zwischen freiem Carnitin und Progesteron ($r_s = 0,57$; $p < 0,01$).

Bei der Untersuchung am 5. bzw. 6. Rossetag zeigen alle Stuten ein gesteigertes Anbietungsverhalten mit starkem Blitzen und Schleimabsonderung. Die palpatorisch, bei einigen Stuten palpatorisch und ultrasonografisch, erfasste Follikelgröße liegt zwischen 4 und 5 cm. Die Follikelkonsistenz ist weich und fluktuierend. Bei der Untersuchung am 7./ 8. Rossetag ist ein vollständiges Rossebild nicht mehr ausgeprägt. Bei der rektalen Untersuchung ist ein frisch ausgelaufener Follikel bei allen Stuten palpatorisch bzw. bei einigen palpatorisch und ultrasonografisch erfassbar. Die Stuten haben somit alle innerhalb der letzten 48 Stunden ovuliert.

Zwischen der Gesamtcarnitinkonzentration und der Follikelkonsistenz existiert eine gesicherte positive Korrelation

($r_s=0,66$; $p<0,01$). Auch die Konzentration des freien Carnitins korreliert mit der Follikelkonsistenz positiv ($r_s=0,68$; $p<0,01$).

Diskussion

Carnitin

Für die Stute liegen bisher nur relativ wenig Angaben zu den Carnitinblutserum- bzw. Carnitinplasmakonzentrationen vor. Bei über 7 Jahre alten Vollblutstuten geben Foster et al. (1989b) eine Serumkonzentration an freiem Carnitin von $21,0-24,6 \mu\text{mol/l}$ an. Bei fünfjährigen Stuten wurden von Szilagyi et al. (1992) mittlere Konzentrationen von $25,1 \pm 5,2 \mu\text{mol/l}$ freiem Carnitin im Blutserum gefunden. Bruscato et al. ermittelten 1991 bei Vollblutstuten 1 bis 2 Wochen vor der Rosse eine Konzentration an freiem Carnitin von $16,0 \pm 3,9 \mu\text{mol/l}$, in der Rosse von $31,4 \pm 3,6 \mu\text{mol/l}$ und 1 bis 2 Wochen nach der Ovulation von $22,0 \pm 5,1 \mu\text{mol/l}$.

Tab 2 Konzentration ausgewählter Parameter des Fettstoffwechsels im Blutplasma von Warmblutstuten während der Rosse in mmol/l

Concentration of a choice of parameter of lipid metabolism in blood plasma of warm-blooded mares during oestrus in mmol/l

Entnahmen	statistische Maßzahlen	Cholesterol (gesamt)	HDL-Cholesterol	Triglyceride	Phospholipide
1	(n)	(7)	(7)	(7)	(7)
Rossetag 3-4	$\bar{x} \pm s$	$2,03 \pm 0,41$	$1,34 \pm 0,24$	$0,31 \pm 0,20$	$1,56 \pm 0,01$
	Median	1,99	1,36	0,29	1,55
	(1.-3.Quartil)	(1,67-2,42)	(1,18-1,62)	(0,19-0,37)	(1,46-1,67)
2	(n)	(12)	(12)	(12)	(12)
Rossetag 5-6	$\bar{x} \pm s$	$2,12 \pm 0,46$	$1,43 \pm 0,29$	$0,28 \pm 0,20$	$1,64 \pm 0,24$
	Median	2,12	1,37	0,18	1,68
	(1.-3.Quartil)	(1,67-2,54)	(1,18-1,67)	(0,13-0,43)	(1,45-1,81)
3	(n)	(13)	(13)	(13)	(13)
Rossetag 7-8/ Zeitraum bis 48 h post ovulationem	$\bar{x} \pm s$	$2,14 \pm 0,31$	$1,38 \pm 0,26$	$0,25 \pm 0,12$	$1,60 \pm 0,13$
	Median	2,15	1,28	0,22	1,57
	(1.-3.Quartil)	(1,89-2,40)	(1,19-1,62)	(0,17-0,37)	(1,52-1,72)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Entnahmen		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = $p < 0,05$, nicht signifikant

1:2 = 1 signifikant ($p < 0,05$) verschieden von 2

n = Anzahl der Tiere

$\pm s$ = arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung

Der von Bruscato et al. bei Vollblutstuten und in unseren Untersuchungen bei Haflinger- und Warmblutstuten nachgewiesene hohe Anstieg der Carnitinkonzentration während der Follikelreifung könnte mit der Versorgung der Eizelle mit Aminosäuren, Fettsäuren und Pyruvat unter Vermittlung der Epithelzellen im Zusammenhang stehen, da das Carnitin-System (Carnitin-Palmitoyltransferase I/ II, Carnitintranslokase) für

den Transport aktivierter Fettsäuren durch die innere Mitochondrienmembran verantwortlich ist. Dies reflektiert den funktionellen Carnitinbedarf als Voraussetzung für die kurzfristig erforderliche Energiegewinnung durch die β -Oxidation und für die Bereitstellung von Acetylgruppen für die Follikel- und Eizellenreifung sowie für den Gesamtorganismus aufgrund der gesteigerten Aktivität und der geringeren Futtermittelaufnahme der Stute in der Rosse.

Der Anteil des veresterten Carnitins am Gesamtcarnitin liegt bei den Haflingerstuten an den Rossetagen 3 und 5 zwischen 18 und 20 % und bei den Warmblutstuten an den Rossetagen 3/4 bzw. 5/6 bei etwa 13 %. Im Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation (Rossetag 7/ 8) sinkt der Anteil des veresterten Carnitins auf unter 14 % bei den Haflingerstuten und auf etwa 10 % bei den Warmblutstuten ab.

Das Verhältnis von freiem zu gebundenem Carnitin ist belastungsabhängig. Durch die Zunahme des veresterten Anteils wird die Speicherfunktion für die bei der Energiegewinnung während der Reifung von Follikel und Eizelle anfallenden Acetylgruppen deutlich. Sie ist als Indikator für eine erhöhte Fettsäureoxidationsrate zu bewerten (Schmidt-Sommerfeld 1985). Die Energiegewinnung in der Eizelle erfolgt im wesentlichen über die Verbrennung von Pyruvat (Schenk und Kolb 1990). Bei der oxidativen Decarboxylierung von Pyruvat hat das Carnitin eine wichtige cofaktorielle Wirkung (Zeyner 1996). Die Nutzung der oxidativen Decarboxylierung wird durch die Acetylspeicherfunktion begünstigt, insbesondere wenn die Kapazität des Zitratzyklus ausgeschöpft ist (Harmeyer und Schlumbohm 1997).

Die gemessene Konzentration des Carnitins lag bei den Warmblutstuten auf dem Niveau, das auch Bruscato et al. (1991) bei ihren Untersuchungen mit Vollblutstuten gefunden hatten. Die Haflingerstuten weisen dagegen eine um etwa $9 \mu\text{mol/l}$ niedrigere Konzentration bei Gesamtcarnitin und auch bei freiem Carnitin im Blutplasma auf als die Warmblutstuten. Davon ausgehend scheinen Haflinger, die zu den Robustrassen gehören, niedrigere Carnitinblutspiegel zu besitzen als Warmblut- und Vollblutpferde.

Bei den Haflingerstuten erfolgten weitere Probennahmen. Eine Woche nach der Ovulation ist die Carnitinkonzentration signifikant auf ein Niveau deutlich unter dem in der Rosse abgesunken. In der Rosse ermittelten Bruscato et al. (1991) bei Vollblutstuten eine Erhöhung der Carnitinserumkonzentration parallel mit der Follikelgrößenzunahme bis zur Ovulation.

Bei unseren Untersuchungen konnte bei den Warmblut- wie den Haflingerstuten ein Zusammenhang zwischen Größenzunahme und Konsistenzabnahme des Follikels und Erhöhung der Carnitinplasmaspiegel nachgewiesen werden. Die Carnitinwerte zeigen sowohl bei den Warmblutstuten als auch bei den Haflingerstuten bis zur Hochrosse und Ovulation einen deutlichen Anstieg. Zwischen der Entwicklung der Follikelkonsistenz und der Carnitinplasmakonzentration besteht eine gesicherte positive Korrelation.

Bruscato et al. (1991) hatten bei Vollblutstuten die Ausprägung einer deutlichen Rossesyndromatik bei Konzentrationen von freiem Carnitin um $30 \mu\text{mol/l}$ (Mittelwert) oder mehr festgestellt.

Der mittlere Gehalt an freiem Carnitin liegt bei den ersten Rossezeichen bei 24,6 $\mu\text{mol/l}$ (21,1 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert) und steigt bis zur Hochrosse auf 28,3 $\mu\text{mol/l}$ (26,8 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert). Durch die weiteren Untersuchungen nach der Ovulation, die bei Bruscato et al. (1991) nicht erfolgten, konnte nachgewiesen werden, dass über die Ovulation hinaus der mittlere Gehalt an freiem Carnitin mit 27,4 $\mu\text{mol/l}$ (27,2 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert) am Rossetag 7/8, dem Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation, in nahezu gleicher Höhe bestehen bleibt. Das gleiche Verhalten trifft für die Gesamtcarnitinkonzentration zu. Bei den ersten guten Rossezeichen liegt ihr Mittelwert bei 28,2 $\mu\text{mol/l}$ (23,8 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert). In der Hochrosse steigt die mittlere Gesamtcarnitinkonzentration auf 32,2 $\mu\text{mol/l}$ (30,8 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert). Im Zeitraum bis 48 Stunden nach der Ovulation beträgt die mittlere Gesamtcarnitinkonzentration noch 30,5 $\mu\text{mol/l}$ (28,7 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert).

Bei den Haflingerstuten liegt ein gleiches Verhalten der Konzentration von freiem Carnitin vor. Die Ausprägung eines deutlichen Rossebildes wurde bei einer durchschnittlichen Konzentration an freiem Carnitin von 17 $\mu\text{mol/l}$ festgestellt. In der Hochrosse und Ovulationszeit steigt der mittlere Gehalt des freien Carnitins auf 19,6 $\mu\text{mol/l}$ (17,7 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert) an, um 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung auf 13,3 $\mu\text{mol/l}$ (12,1 $\mu\text{mol/l}$ Medianwert) zu fallen.

Parameter des Fettstoffwechsels und Beziehungen zwischen Carnitin und diesen Parametern

Bei den Konzentrationen der Parameter des Fettstoffwechsels sind beide Pferderassen im wesentlichen auf gleichem Niveau. Bei HDL-Cholesterol weisen die Warmblutstuten aber hoch signifikant höhere Konzentrationen auf. Die gemessenen Werte liegen in der Größenordnung der bekannten Referenzwerte für Pferde (Kraft und Dürr 1995; Dietz und Huskamp 1999)

Der Abfall der Blutserumtriglyceridkonzentration bei den Haflinger- und Warmblutstuten während der Rosse bis zum Ovulationszeitraum und die bei den Warmblutstuten nachweislich negative Korrelation zum Carnitin bestätigt die im Zusammenhang mit dem Verhalten der Carnitinkonzentration bereits genannten Funktionsabläufe und ist als ein Verbrauch der Triglyceride für die Energiegewinnung durch die β -Oxidation und im Zitratzyklus zu sehen. So erklärt sich auch der bei der Probennahme bei den Haflingerstuten 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung gefundene Wiederanstieg der Triglyceride parallel zum Abfall des Carnitins nach der Ovulation.

Wie die Blutplasmakonzentration der Triglyceride fällt auch die der freien Fettsäuren zur Ovulation hin signifikant ab. Ihr Rückgang ist gleichfalls im Sinne eines Verbrauchs der freien Fettsäuren für die Energiegewinnung zu sehen, wenn auch der Blutspiegel der freien Fettsäuren nicht nur durch die carnitinabhängige Fettsäureoxidation, sondern auch durch Lipolyse und Fettsäuresynthese beeinflusst wird (Schmidt-Sommerfeld 1985). Die positive Korrelation zwischen der Konzentration der freien Fettsäuren zur Konzentration des veresterten Carnitins am Rossetag 3 ist ein Hinweis auf die Beanspruchung des Acyl-Carnitin-Puffers infolge der gesteigerten Fett-

säureoxidationsrate für die Follikelreifung. Der Rückgang erklärt sich neben dem Verbrauch für die Energiegewinnung auch mit der zunehmenden Speicherung der Fettsäuren als Acylcarnitin, das durch die Zunahme des Anteils des veresterten Carnitins deutlich wird.

Bei den Haflingerstuten verhält sich die Konzentration des Cholesterols ähnlich der Dynamik der Triglyceride. Bis zur Ovulation fällt die Cholesterolkonzentration signifikant ab, um dann auch 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung über das Niveau in der Rosse anzusteigen. Bei den Warmblutstuten dagegen ist ein tendenzieller, aber nicht sicherbarer Anstieg der Cholesterolkonzentration zu beobachten.

Die Konzentrationen der Phospholipide und des HDL-Cholesterols steigen bei Haflinger- und Warmblutstuten bis zum 5./6. Rossetag an. Danach ist zur Ovulation hin ein tendenzieller Rückgang feststellbar. Bei der nur bei den Haflingerstuten 7 bis 9 Tage nach der letzten Belegung entnommenen Probe wurde bei den Phospholipiden analog dem Verhalten der Cholesterolkonzentration ein Anstieg über das Niveau in der Rosse gemessen. Die HDL-Konzentration ist dagegen signifikant abgesunken. Dies kann als Ausdruck eines starken Rückgangs des Cholesterolrücktransportes von extrahepatischen Geweben bewertet werden (Löffler 1999).

Estradiol-17 β und Progesteron sowie Beziehungen zu Carnitin

Die Mittelwerte der Konzentrationen des 17 β -Estradiols liegen bei den Haflingerstuten am 3. Tag der Rosse bei 69,8 pmol/l, bei den Warmblutstuten am 3./4. Rossetag bei 158,6 pmol/l bzw. Median bei 70,3 pmol/l und 140,0 pmol/l. Bei den Haflingerstuten bleiben sie am 5. Tag der Rosse in etwa auf ihrem Niveau 67,9 pmol/l und Median 70,1 pmol/l. Zur Ovulation hin sinken die Konzentrationen auf 64,5 pmol/l, das im Median deutlich zum Ausdruck kommt. Bei den Warmblutstuten hingegen steigen sie zum 5./6. Rossetag auf = 192,8 pmol/l bzw. im Median auf 195,0 pmol/l, um zur Ovulation hin wieder annähernd auf die Ausgangswerte = 161,0 pmol/l bzw. Median 140,0 pmol/l zu fallen.

Parallel dazu steigen sehr signifikant die Progesteronwerte bei den Haflingerstuten vom 5. Rossetag zum Ovulationszeitraum von = 2,35 nmol/l auf 6,37 nmol/l bzw. Median von 1,55 nmol/l auf 6,85 nmol/l und bei den Warmblutstuten vom 5./6. Rossetag zum Ovulationszeitraum von = 1,98 nmol/l auf 13,59 nmol/l bzw. Median von 1,8 nmol/l auf 8,4 nmol/l signifikant an.

Als Ausdruck der bevorstehenden Ovulation ist der parallele und positiv korrelierende Anstieg von Carnitin und Progesteron in der letzten Phase vom 5./6. Rossetag zum 7./8. Rossetag - gleich Ovulationszeit - zu werten.

Eine Korrelation zwischen der Carnitinkonzentration und der Konzentration von Estradiol-17 β lässt sich im vorliegenden Patientengut statistisch nicht nachweisen. Die gemessenen Estrogenblutspiegel sind individuell sehr unterschiedlich (Munroe et al. 1979). Sie werden wie auch das Carnitin von vielen, partiell verschiedenen Faktoren beeinflusst. Aus diesen Gründen ist eine lineare Abhängigkeit nicht zu erwarten gewesen.

Literatur

- Armstrong P. J., Hardie E. M., Cullen J. M., Keene B. W., Hand M. S. und Babineau C. A. (1992): L-Carnitine reduces hepatic fat accumulation during rapid weight reduction in cats, *ACVIM Abstracts* 6, 127
- Baumgartner M. und Blum R. (1997): More lean meat thanks to L-carnitine, *Internat. Pig Topics* 12, 19–22
- Benamou A. E. und Harris R. C. (1993): Effect of carnitine supplement to the dam on plasma carnitine concentration in sucking foal, *Equine vet. J.* 25, 49–52
- Bruscato F., Avery D. R., Roberts G., Lane S. und Hamilton B. (1991): A preliminary correlation study of serum free carnitine concentration and follicle size in thoroughbred mares, *Equine Vet. Sci.* 11, 247–249
- Cederblad G. und Lindstedt S. (1972): A method for the determination of carnitine in the picomole range, *Clin. Chim. Acta* 37, 235–237
- Dietz O. und Huskamp B. (1999): *Handbuch Pferdepraxis*, 2. Aufl., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 4
- Dubelaar M. L., Lucas C. M. und Hülsmann W. C. (1991): Acute effect of L-carnitine on a skeletal muscle force test in dogs, *Am. J. Physiol.* 260, E189–E193
- Erle J. D., Fisher L. und Sauer F. D. (1970): Carnitine and acetylcarnitine in the milk of normal and ketotic cows, *J. Dairy Sci.* 53 No 4, 486–489
- Foster C. V. L. und Harris R. C. (1987): Formation of acetylcarnitine in muscle of horse during high intensity exercise, *Eur. J. Appl. Physiol.* 56, 639–642
- Foster C. V. L., Harris R. C. und Pouret E. J. M. (1989a): Effect of L-carnitine on its concentration in the plasma of yearling Thoroughbred horses, *Vet. Rec.* 125, 125–128
- Foster C. V. L., Harris R. C. und Pouret E. J. M. (1989b): Survey of plasma free carnitine levels in 74 Thoroughbred horses at stud and in training, *Equine vet. J.* 21, 139–141
- Foster C. V. L., Harris R. C. und Snow D. H. (1988): The effect of oral L-carnitine supplementation on the muscle and plasma concentration in the Thoroughbred horse, *Comp. Biochem. Physiol.* 91a, 827–835
- Genger H., Sevelde P., Vytiska-Binstorfer E., Salzer H., Legenstein E. und Lohninger A. (1988): Carnitinspiegel während der Schwangerschaft, *Z. Geburtshilfe Perinatol.* 192, 134–136
- Harmeyer J. und Schlumbohm C. (1997): Die physiologische Bedeutung von L-Carnitin und Effekte von Carnitinzulagen bei Haustieren, in: Schubert R., Flachowsky G., Britsch R. und Jahreis G. (Hrsg.), *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Ernährung und Umwelt Jena (ISBN 3-00-002381-X), 42–61
- Herfen K., Harmeyer J., Bostedt H. und Baumgartner M. (1997): The impact of carnitin on sperm quality of stallions (Abstract), *Reprod. Domest. Anim. Physiol. Pathol. Biotechnol.* 32, 77
- Kaiser U. (1997): Einfluß einer L-Carnitinzulage im Futter von hochtragenden und säugenden Sauen auf die Aufzuchtleistung und den Carnitinstatus bei Sauen und Ferkeln, *Diss., Med. Hoch. Hannover*
- Kraft W. und Dürr U. (1995): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, 3. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart; New York. 142–143
- Leibetseder J. (1995): Studies on the effect of L-carnitine in poultry, *Arch. Anim. Nutr.* Vol. 48, 97–108
- Litz H. (1993): Prüfung des zootechnischen Effekts von L-Carnitin Zulagen zum Futter von Absatzferkeln und Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*), *Vet. Med. Diss., Universität München*
- Löffler G. (1999): *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie*, 3. Aufl., Springer-Verlag, Berlin; Heidelberg; New York, Barcelona; Budapest; Hongkong; London; Mailand; Paris; Singapur; Tokio, 212–213
- Munroe C. D., Renton J. P. und Butcher R. (1979): The control of estrous behaviour in the mare, *J. Reprod. Fert., Suppl.* 27, 217–227
- Neu H. (1995): Carnitin: Chemie, Funktion und klinische Bedeutung bei Herzerkrankungen (Kardiomyopathien) des Hundes – eine Literaturübersicht, *Kleintierpraxis* 40, 197–220
- Neu H., Böhles H. und Sewell A. C. (1997): Veränderungen der Blutplasmakonzentration von Carnitin bei der Herzinsuffizienz des Hundes, *Kleintierpraxis* 42, 709–731
- Richter G., Harmeyer J. und Baumgartner M. (1997): Untersuchungen zum Einsatz von L-Carnitin bei Legehennen, in: Schubert R., Flachowsky G., Britsch R. und Jahreis G. (Hrsg.), *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Ernährung und Umwelt Jena (ISBN 3-00-002381-X), 42–61
- Schenk M. und Kolb E. (1990): *Grundriß der physiologischen Chemie*, 8. überarb. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena, 251–253
- Schmidt-Sommerfeld E. (1985): Die Rolle des Carnitins im Fettstoffwechsel der Perinatalperiode des Menschen, *W. Zuckerschwerdt Verlag, München; Bern; Wien*
- Seim H., Achenbach H. und Schneider P. (1993): Determination of different carnitine fractions for diagnosis of carnitine deficiency syndromes, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 31, A47–A48
- Stavros C., Toshio T. und Tadahisa S. (1995): The effect of dietary L-carnitine on growth performance and lipid composition in red sea bream fingerlings, *Fisheries Science.* 61, 1004–1008
- Szilagyi M., Lindberg P. und Sankari S. (1992): Serum L-carnitine concentration in domestic animals, *Proc. Vth Congr. Int. Soc. Anim. Clin. Biochem. Parma (Italy)*: 02.–06. Sep. 1992, 389–391
- Teufel E. V., Citil M., Füll M. und Harmeyer J. (1998): Stoffwechselstabilisierung mit Carnitin beim Rind in der Früh-laktation, in: Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind, Füll, M. (Hrsg.), *Leipziger Samstagakademie, Medizinische Tierklinik der Vet.-med. Fak., Univ. Leipzig*, ISBN 3-00-002818-8, 139–148
- Wittek T., Elze K., Scharfe S. und Seim H. (1999): Carnitinkonzentrationen im Serum des Schweines in Beziehung zur Fortpflanzung, *Züchtungskunde*, 71, 219–228
- Wyss C., Scholer M., Vogt T., Burger D., Bader H., Töpfer-Petersen E. und Harmeyer J. (1997): Carnitine concentrations of seminal plasma and spermatozoa in stallions (Abstract), *Reprod. Domest. Anim. Physiol. Pathol. Biotechnol.* 32, 48
- Zeyner A. (1996): L-Carnitin beim Pferd, Vortrag anlässlich des 14. Vechtaer Veterinär-Symposiums, Vechta, 2. Mai 1996
- Zeyner A. und Harmeyer J. (1999): Metabolic functions of L-carnitine and its effects as feed additive in horses. A review, *Arch. Anim. Nutr.* 52, 115–138

Dr. Hans Christian Meisinger
Waldstraße 14
08451 Crimmitschau
plissi@freenet.de

Pferdeheilkunde Forum 2004 – Berliner Fortbildungstage