

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie;
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2016

© 2016 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**,
Gießen
Printed in Germany

ISBN 978-3-86345-319-0

Verlag: DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
0641/24466
info@dvf.de
www.dvf.de

**Aus der Klinik für Rinder
der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Beurteilung und Beeinflussung der uterinen Involution
beim Rind**

**Habilitationsschrift
zur Erlangung der *Venia legendi*
an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover**

**vorgelegt von
Dr. med vet. Maike Heppelmann
Hannover 2016**

Tag der nicht wissenschaftlichen öffentlichen Aussprache: 19.04.2016

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis		Seite
1.	Vorwort	9
2.	Einleitung	10
2.1	Die uterine Involution beim Rind	10
2.2	Methoden zur Beurteilung der uterinen Involution	11
2.2.1	Nichtinvasive Verfahren	11
2.2.1.1	Transrektale Palpation	11
2.2.1.2	Transrektale B-Mode Sonographie	12
2.2.1.3	Transrektale Dopplersonographie der Aa. uterinae	12
2.2.2	Invasive Verfahren	15
2.2.2.1	Endometriumbiopsie	15
2.2.2.2	Intrauterine Druckmessung	16
2.2.2.3	Elektromyographie	17
2.2.2.4	Dehnungsmessstreifen	17
2.2.2.5	Sonomikrometrie	18
2.3	Beeinflussung der uterinen Involution	20
2.3.1	Physiologische Parameter	20
2.3.2	Pathologische Parameter	21
2.4	Fragestellung	22
3.	Liste der Publikationen (Bestandteil der Habilitationsschrift)	23
4.	Ergebnisse	25
4.1	Der uterine Blutfluss während des Frühpuerperiums beim Rind	25
4.2	Beurteilung der uterinen Involution des Rindes mittels Sonomikrometrie	26
4.3	Einfluss des Ovulationszeitpunktes post partum auf die Uterusinvolution beim Rind	28
4.4	Einfluss von Puerperalstörungen auf die Uterusinvolution beim Rind	30

4.5	Einfluss von Metritis und Hypokalzämie auf die Uterusinvolution beim Rind	33
5.	Übergreifende Diskussion	35
5.1	Methoden zur Beurteilung der Uterusinvolution	35
5.2	Einfluss des Ovulationszeitpunktes p. p. auf die uterine Involution	38
5.3	Einfluss von Erkrankungen im Puerperium auf die Uterusinvolution	42
5.4	Ausblick	47
6.	Zusammenfassung	49
7.	Summary	52
8.	Literaturverzeichnis	55
9.	Darstellung des eigenen Anteils an der wissenschaftlichen Arbeit	71

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
a.p.	ante partum
BFV	Blutflussvolumen
B-Mode	Brightness-Mode
Ca	Calzium
CL	Corpus luteum
D	Gefäßdurchmesser
EP	Endometriumproben
et al.	et alii
E. coli	Escherichia coli
F. necrophorum	Fusobacterium necrophorum
FP	Follikelpunktion
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
IL	Interleukin
Kg	Kilogramm
M	minimale diastolische Frequenzverschiebung
MAD	Median der absoluten Abweichungen
ME	Metritis
MI	Milliliter
Mm	Millimeter
Ng	Nanogramm
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
PG	Prostaglandin
PGFM	13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α}
PI	Pulsatility Index
p.p.	post partum

PS	Puerperalstörungen
P ₄	Progesteron
R	Korrelationskoeffizient
S	Maximale systolische Frequenzverschiebung
SD	Standardabweichung
SH	Subklinische Hypokalzämie
Spp	Subspezies
Tab.	Tabelle
TAMF	mittlere maximale Frequenzverschiebung
TAMV	mittlere maximale Blutflussgeschwindigkeit
T. pyogenes	Trueperella pyogenes
TNF	Tumornekrosefaktor

1. Vorwort

Eine gute Fertilität ist ein wesentlicher Faktor für eine erfolgreiche, moderne Milchviehhaltung. Für die Etablierung einer erneuten Trächtigkeit nach der Abkalbung ist eine ungestörte uterine Involution während des Puerperiums von großer Bedeutung. Sie umfasst beim Rind die Größenreduktion des Uterus, die Regeneration des Endometriums, die Elimination der bakteriellen Kontamination und das Wiedereinsetzen der ovariellen Aktivität (Sheldon et al., 2008) und wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst. Vor allem Erkrankungen im Puerperium führen zu einer verzögerten Rückbildung des Uterus und können so negative Auswirkungen auf die weitere Fertilität des Rindes haben (Fonseca et al., 1983). Aus diesem Grund ist eine genaue Erfassung der uterinen Involution von großer Bedeutung.

Es werden hierfür zahlreiche nichtinvasive und invasive Verfahren beschrieben. Allen Methoden ist gemein, dass eine objektive Bewertung der Größenreduktion des Uterus innerhalb der frühen Phase des Puerperiums kaum möglich ist.

Das Ziel der im Rahmen dieser Habilitation durchgeführten Studien war es daher, neue Verfahren zur objektiven Beurteilung der uterinen Involution zu evaluieren und damit physiologische und pathologische Einflussfaktoren auf die uterine Involution zu untersuchen.

2. Einleitung

2.1 Die uterine Involution beim Rind

Die uterine Involution findet während des Puerperiums statt und dauert beim Rind in etwa 40 bis 42 Tage (Okano and Tomizuka, 1987; Kamimura et al., 1993). Das Puerperium wird in verschiedene Phasen eingeteilt und beginnt mit dem Ende des Nachgeburtsstadiums, das mit dem Abgang der Plazenta bzw. sechs Stunden p.p. abgeschlossen ist. Das Frühpuerperium dauert etwa zehn Tage und ist durch eine massive Größenreduktion und das Sistieren des Lochialflusses gekennzeichnet. Bis zum 21. Tag p.p., dem Ende des klinischen Puerperiums, bildet sich der Uterus auf seine prägravide Größe zurück. Nach etwa 42 Tagen p.p. ist die morphologische und funktionelle Rückbildung des Uterus abgeschlossen (Zaremba, 1990).

Die uterine Involution umfasst die Größenreduktion des Uterus, die Regeneration des Endometriums, die Elimination der bakteriellen Kontamination und das Einsetzen der zyklischen Ovaraktivität (Sheldon et al., 2008). Für die Größenreduktion des Uterus in den ersten Tagen nach der Abkalbung sind vor allem Kontraktionen des Myometriums und der damit einhergehende Auswurf der Lochien verantwortlich (Gier und Marion, 1968; Van Camp, 1991; Sheldon et al., 2008). Das Gewicht des Uterus, von anfänglich etwa 9 kg nach der Abkalbung, nimmt über 3,5 kg an Tag 10 p.p. bis auf etwa 0,8 kg an Tag 30 p.p. ab. Die Länge des ehemals graviden Uterushorns verringern sich bis Tag 10 nach der Abkalbung um 49% und bis Tag 30 p.p. um insgesamt 68%; der Querschnitt im selben Zeitraum um 57% bzw. 88% (Gier und Marion, 1968).

Die Regeneration des Epithels setzt an Tag 5 p.p. mit der Nekrose und Ablösung der Karunkeln ein. Zwischen Tag 11 und 15 nach der Abkalbung beginnt die Reepithelisierung des karunkulären Teils des Endometriums, die bis zu 30 Tage dauern kann. Das interkarunkuläre Endometrium hat sich schon etwa 8 Tage p.p. vollständig regeneriert (Gier und Marion, 1968; Van Camp, 1991).

Nach der Abkalbung ist bei 90% der Kühe eine bakterielle Kontamination im Uterus mit einem breiten Spektrum von unspezifischen Erregern nachweisbar (Griffin et al.,

1974; Sheldon und Dobson, 2004). Das Vorkommen bestimmter Erreger, wie *Escherichia (E.) coli*, *Trueperella (T.) pyogenes* und *Fusobacterium (F.) necrophorum*, ist mit dem Auftreten von Metritiden und Endometritiden assoziiert (Huszenicza et al., 1999). Während der ersten Wochen p.p. ist die bakterielle Kontamination des Uterus ein dynamischer Vorgang, bei der eine Elimination und spontane Rekontamination mit bakteriellen Erregern stattfinden kann. Ab der 4. Woche p.p. setzt dann die zunehmende Elimination der Keimflora ein (Griffin et al., 1974; Sheldon und Dobson, 2004).

Das Einsetzen der zyklischen Ovaraktivität nach der Abkalbung hängt von der funktionellen Regeneration der Hormonachse zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Ovar ab (Savio et al., 1990; Ginther et al., 1996). Die erste Ovulation findet bei ungestörtem Puerperalverlauf durchschnittlich nach $21,2 \pm 9,6$ Tagen p.p. statt (Savio et al., 1990; Kamimura et al., 1993).

2.2 Methoden zur Beurteilung der uterinen Involution

2.2.1 Nichtinvasive Verfahren

2.2.1.1 Transrektale Palpation

Die transrektale Palpation des Uterus ist eine nichtinvasive und einfach durchzuführende Methode für die Beurteilung der uterinen Involution (Morrow et al., 1969). Es kann hierbei die Größe, Symmetrie, Kontraktibilität und Fluktuation des Uterus erhoben werden (Grunert, 1979). Nach Morrow et al. (1966) ist die Größenreduktion des Uterus bis Tag 25 p.p. größtenteils abgeschlossen und die Uterushörner sind dann annähernd symmetrisch. Nachteile der transrektalen Palpation sind die Subjektivität der Methode (Okano und Tomizuka, 1987; Bekana et al., 1994) und die begrenzte Erreichbarkeit des gesamten Uterus in den ersten Tagen nach der Abkalbung (Kamimura et al., 1993).

2.2.1.2 Transrektale B-Mode Sonographie

Im Gegensatz zur transrektalen Palpation ist die B-Mode Sonographie eine objektive Methode zur Beurteilung der uterinen Rückbildung (Okano und Tomizuka, 1987). Für die Bewertung der Größenreduktion können Durchmesser und Querschnittfläche der Uterushörner verwendet werden. Durchschnittlich ist die uterine Involution in den mittels B-Mode Sonographie durchgeführten Studien 40 bis 42 Tage p.p. abgeschlossen (Okano und Tomizuka, 1987; Kamimura et al., 1993). Neben der Größenreduktion während des Puerperiums unterliegt der Uterus auch zyklischen Schwankungen, die mit der sonographischen Untersuchung darstellbar sind. Während des Östrus kommt es durch die zunehmende Ödematisierung zu einer Zunahme der Dicke des Endometriums (Pierson und Ginther, 1987; Kamimura et al., 1993). Zusätzlich zur Größe der Uterushörner können mittels Sonographie auch Art und Umfang des Uterusinhalts bestimmt werden (Bekana et al., 1994). Als Nachteil der transrektalen Sonographie kann wie bei der manuellen Palpation auch hier die begrenzte Abgrenzbarkeit des Uterus in den ersten Tagen nach der Abkalbung angesehen werden (Kamimura et al., 1993; Melendez et al., 2004).

2.2.1.3 Transrektale Dopplersonographie der Aa. uterinae

Die transrektale Dopplersonographie wurde als nichtinvasives Verfahren zur Quantifizierung des uterinen Blutflusses beim Rind etabliert (Bollwein et al., 2000; Bollwein et al., 2002). Diese Methode erlaubt eine Bestimmung des uterinen Blutflusses während des Zyklus (Bollwein et al., 2000) und der Trächtigkeit (Bollwein et al., 2002; Panarace et al., 2006; Honnens et al., 2008). Die Dopplersonographie ist aber auch zur Untersuchung der uterinen Perfusion während des Puerperiums geeignet und stellt eine indirekte, aber objektive Methode für die Beurteilung der Uterusinvolution dar (Krüger et al., 2009). In der letztgenannten Studie wurden charakteristische Veränderungen des Blutflussvolumens (BFV) und des Blutflusswiderstandes, dargestellt als Pulsatility Index (PI), beobachtet. Das BFV nahm in den ersten vier Wochen nach der Abkalbung ab, während der PI in den ersten vier Wochen anstieg und danach bis zur 8. Woche p.p. abfiel. Die Ergebnisse dieser Studie (Krüger et al., 2009) zeigten,

dass auch nach Abschluss der makroskopisch sichtbaren uterinen Involution weitere Veränderungen im Gefäßbett des Uterus stattfinden.

Für die transrektale Doppleruntersuchung des uterinen Blutflusses ist die A. uterina darzustellen. Hierzu verfolgt man dieses Gefäß in seinem retrograden Verlauf bis zur A. umbilicalis und anterograd bis zu ihrer Endaufzweigung am Uterus. Die A. uterina wird in der Nähe der A. und V. iliaca externa so angeschnitten, dass der Winkel zwischen Schallwellen und Blutstrom maximal 60° beträgt (Bollwein et al., 2000). Bei einem Winkel von über 60° kommt es bei kleinen Ungenauigkeiten zu einem relativ großen Fehler in der Berechnung der Blutflussgeschwindigkeit (Dickey, 1997). Der PI, ein Maß für den Gefäßwiderstand, wird anhand der maximalen systolischen (S), der minimalen diastolischen (M) und mittleren maximalen Frequenzverschiebung (time averaged maximum frequency shift; TAMF) während des Herzzyklus mittels folgender Formel berechnet: $PI = (S - M / TAMF)$ (Abb. 1). Die mittlere maximale Blutflussgeschwindigkeit (TAMV) wird wie folgt errechnet:

$$TAMV = \frac{TAMF \cdot c}{2 \cdot f_0 \cdot \cos \alpha}$$

TAMF = mittlere maximale Frequenzverschiebung [cm/s]

C = Ausbreitungsgeschwindigkeit des Ultraschalls in Weichteilgewebe
[ca. 1540 m/s]

f_0 = Sendefrequenz des Schallkopfs [Hz]

α = Winkel zwischen Ultraschallstrahl und Blutflussrichtung

Aus dem TAMV und dem im B-Mode gemessenen Gefäßdurchmesser (D) wird das BFV berechnet.

$$\text{BFV} = \text{TAMV} \times \left(\frac{D}{2}\right)^2 \times \pi \times 60 \times 100$$

BFV = Blutflussvolumen [ml/min]

TAMV = mittlere maximale Blutflussgeschwindigkeit [m/s]

D = Gefäßradius [cm]

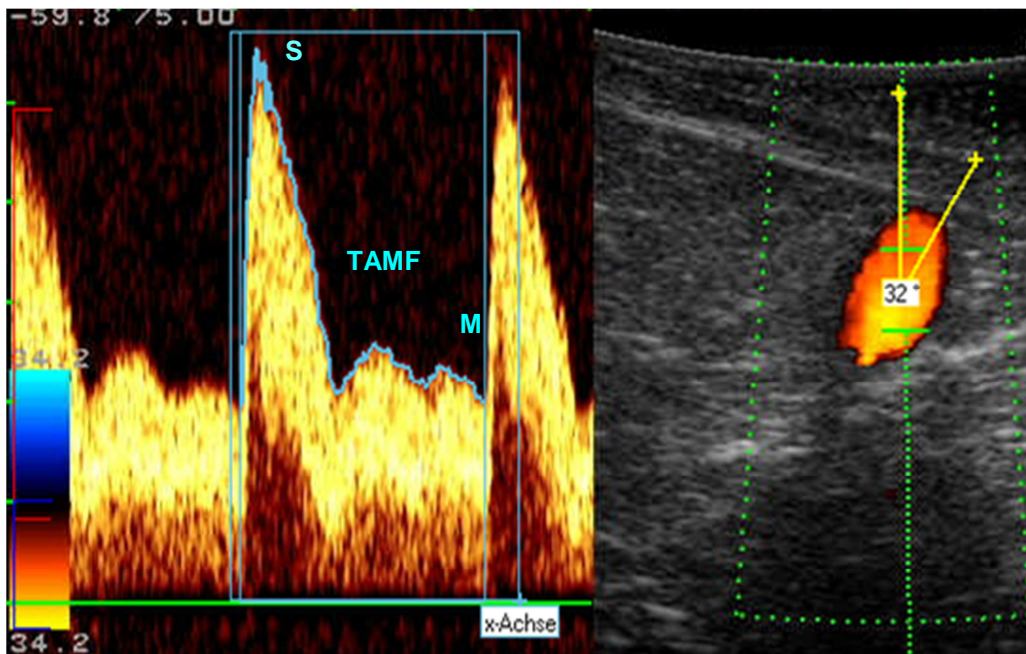


Abb. 1: Farbdopplersonographische Darstellung im pulsed-wave-Modus. Links: Pulswellen der A. uterina mit maximaler systolischer (S), minimaler diastolischer (M) und mittlerer maximaler Frequenzverschiebung (TAMF); rechts: Anschnitt der A. uterina mit Winkeleinstellung (32°)

2.2.2 Invasive Verfahren

2.2.2.1 Endometriumbiopsie

Die Untersuchung von Endometriumbiopsaten ist eine weitere Methode, die zur Beurteilung der uterinen Involution herangezogen werden kann (Bonnett et al., 1991b; Sheldon et al., 2006). Die histopathologische Untersuchung einer Endometriumbiopsie wird als repräsentativ für das gesamte Endometrium angesehen (Rodenbusch, 2011). Während Etherington et al. (1988) durch die Entnahme einer Endometriumbiopsie einen negativen Einfluss auf die Fruchtbarkeit feststellten, konnten neuere Untersuchungen dies nicht bestätigen (Chapwanya et al., 2010; Merbach, 2012). Allerdings ist eine hochfrequente Entnahme von Biopsien während eines Zyklus nicht zu empfehlen (Merbach, 2012).

Die histopathologische Untersuchung der Endometriumbiopsie beim Rind dient vor allem der Diagnostik von entzündlichen Veränderungen des Endometriums, bspw. der subklinischen Endometritis (Sheldon et al., 2006). Im Gegensatz zum Schleimhautabstrich können mit Hilfe der Biopsie auch tiefere Schichten des Endometriums beurteilt werden (Düvel et al., 2014). Die akute Endometritis ist durch die massive Einwanderung von neutrophilen Granulozyten in das Oberflächenepithel und das Stratum compactum gekennzeichnet. Bei einem chronischen Verlauf kommt es zusätzlich zu einer Infiltration mit Lymphozyten und Plasmazellen (Gonzalez et al., 1985; Bondurant, 1999; Merbach, 2012). Chapwanya et al. (2012) konnten an Endometriumbiopsaten von Tag 15, 30 und 60 p.p. einen kontinuierlichen Rückgang an Leukozyten verzeichnen, was für eine Elimination der postpartalen uterinen Inflammation im Verlaufe des Puerperiums spricht. Bei molekularbiologischen Untersuchungen von Endometriumbiopsien bzw. -abstrichen war bei Tieren mit klinischen und subklinischen Endometritiden eine erhöhte Expression von proinflammatorischen Zytokinen (Interleukin (IL)-1 α und β , IL6 und Tumornekrosefaktor (TNF)- α) nachweisbar (Gabler et al., 2009; Fischer et al., 2010; Galvao et al., 2011). Im Frühpuerperium ist eine vermehrte Expression von proinflammatorischen Zytokinen ein physiologischer Vorgang, der die Elimination bakterieller Kontaminationen und Entzün-

dungen widerspiegelt (Herath et al., 2009; Gabler et al., 2010; Chapwanya et al., 2012).

Neben entzündlichen Veränderungen des Endometriums können auch degenerative Erkrankungen auftreten. Analog zur equinen Endometrose (Schoon et al., 1997) wird die Endometrose beim Rind als endometriale periglanduläre und/oder stromale Fibrose mit Alteration der betroffenen Drüsen definiert (Merbach, 2012). Untersuchungen zeigen, dass das Vorkommen von höhergradigen Endometrosen beim Rind negativ mit der Fertilität assoziiert ist (Manspeaker et al., 1983; Gonzalez et al., 1985; Bonnett et al., 1991b; Rodenbusch, 2011; Merbach, 2012). Endometriale Angiosklerosen sind durch eine Zubildung kollagener und elastischer Fasern in den Gefäßwänden charakterisiert (Merbach, 2012). Sie nehmen sowohl mit dem Alter als auch mit der Anzahl an Abkalbungen zu. Auch hier ist ein negativer Einfluss von Angiosklerosen auf die Fruchtbarkeit nicht auszuschließen (Rodenbusch, 2011).

2.2.2.2 Intrauterine Druckmessung

Die intrauterine Druckmessung ist eine relativ einfache und nichtinvasive Methode zur Erfassung der uterinen Kontraktilität (Bajcsy et al., 2005). Hierbei werden Katheter verwendet, die transzervikal in den Uterus eingeführt werden. Bei offenen Kathetern werden Druckänderungen im Uterus durch eine Flüssigkeitssäule abgenommen, die mit einem Druckwandler verbunden ist (Bajcsy et al., 2005; Bajcsy et al., 2006). Geschlossene Katheter arbeiten mit einem flüssigkeitsgefüllten Ballon, der die intrauterinen Druckschwankungen aufnimmt (Döcke, 1962; Eiler et al., 1981). Ein spezielles System verwendet zur Druckmessung einen Mikroballon, der in die Uteruschleimhaut implantiert wird (Gillette und Holm, 1963). Eine Untersuchung an Kühen innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Abkalbung zeigte eine Abnahme der Kontraktilitätsparameter, wobei allerdings eine große interindividuelle Varianz auftrat (Bajcsy et al., 2005). Die intrauterine Druckmessung erlaubt eine zuverlässige Erhebung von Frequenz, Amplitude und Dauer von Uteruskontraktionen. Dabei kann jedoch keine Aussage über die Lokalisation der Kontraktion bzw. die damit einhergehende Größenänderung des Uterus getroffen werden (Csapo, 1970).

2.2.2.3 Elektromyographie

Die Elektromyographie (EMG) ist ein invasives Verfahren, bei dem die Messelektroden in der Tunica muscularis des Uterus fixiert werden (Hanzen, 1981; Daberitz et al., 1984; Kündig et al., 1990; van Engelen et al., 2007b). Die Elektroden erfassen elektrische Potentialdifferenzen, die infolge von Kontraktionen der glatten Muskulatur des Uterus entstehen (Daberitz et al., 1984). Kündig et al. (1990) untersuchten mit einer Kombination von Druckmesssonden und EMG-Elektroden die spontane Uterusmotorik von vier Kühen während des Puerperiums. Nach dem Abgang der Nachgeburt kam es zu einer raschen Abnahme der Spontanmotorik, die sich ab der 2. Woche p.p. wieder erhöhte. Van Engelen et al. (2007b) beobachteten eine Abnahme der EMG-Aktivität um 59% innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Abkalbung bei Tieren mit einer Nachgeburtshaltung.

Als Nachteile der EMG sind zu nennen, dass nicht unterschieden werden kann, ob sich die Kontraktionen in longitudinaler oder zirkulärer Richtung ausbreiten und ob es sich bei der aufgezeichneten Aktivität um eine Kontraktion oder eine Expansion handelt (Adelson und Million, 2004). Elektrische Geräte in der Umgebung können zu Störsignalen führen. Weiterhin kann eine genaue Messung erst erfolgen, wenn die Fixationsstellen etwa eine Woche nach der Fixation bindegewebig organisiert sind (Daberitz et al., 1984).

2.2.2.4 Dehnungsmessstreifen

Die Kontraktilität des Uterus kann durch Dehnungsmessstreifen gemessen werden, die mittels Laparotomie auf der Serosa des Uterus platziert werden. Eine Dehnung oder Stauchung des Streifens führt zu einer Änderung des elektrischen Widerstandes, der proportional zu der einwirkenden Kraft ist (Bass und Wiley, 1972; Capraro et al., 1977). Burton et al. (1987) brachten bei zwölf Kühen nach der Abkalbung vier Dehnungsmessstreifen auf das ehemals tragende Uterushorn auf. Es zeigte sich, dass Kühe mit Nachgeburtshaltung eine höhere Frequenz von Kontraktionen aufwiesen als Tiere mit physiologischem Abgang der Nachgeburt.

Gegenüber der intrauterinen Druckmessung hat diese Methode den Vorteil, dass keine Irritation des Uteruslumens stattfindet. Allerdings kann es bei längerer Versuchsdauer zu einer Oxidation der Elektroden kommen (Capraro et al., 1977). Dehnungsmessstreifen sind zwar gut für die Erfassung von Kontraktionen geeignet, eine Messung der Größenänderung im Zuge der Uterusinvolution ist damit jedoch nicht möglich (Kündig et al., 1990).

2.2.2.5 Sonomikrometrie

Das Prinzip der Sonomikrometrie beruht auf der Messung der Zeit, die eine Ultraschallwelle für die Zurücklegung der Strecke von einem Sender zu einem Empfänger benötigt. Als Sender bzw. Empfänger fungiert ein piezoelektrischer Kristall, der sich unter Anlegung einer Spannung verformt und Ultraschallwellen abgibt. Wenn diese Wellen auf einen anderen Kristall auftreffen, verformt sich dieser und gibt eine entsprechende Spannung ab (Adelson und Million, 2004). Da die Schallgeschwindigkeit im Weichteilgewebe mit 1540 m/s bekannt ist und eine konstante Größe darstellt (Braun, 1997), kann aus der gemessenen Zeit für die Ausbreitung der Ultraschallwelle die Strecke zwischen den beiden Kristallen berechnet werden (Strecke = Weg x Zeit). Die dynamische Auflösung dieses Systems wird mit 0,016 mm angegeben. Durch die Kombination von mehreren Kristallen, die als Sender und als Empfänger fungieren (Abb. 2), kann von Organen ein dreidimensionales Bild erstellt werden (Adelson und Million, 2004).

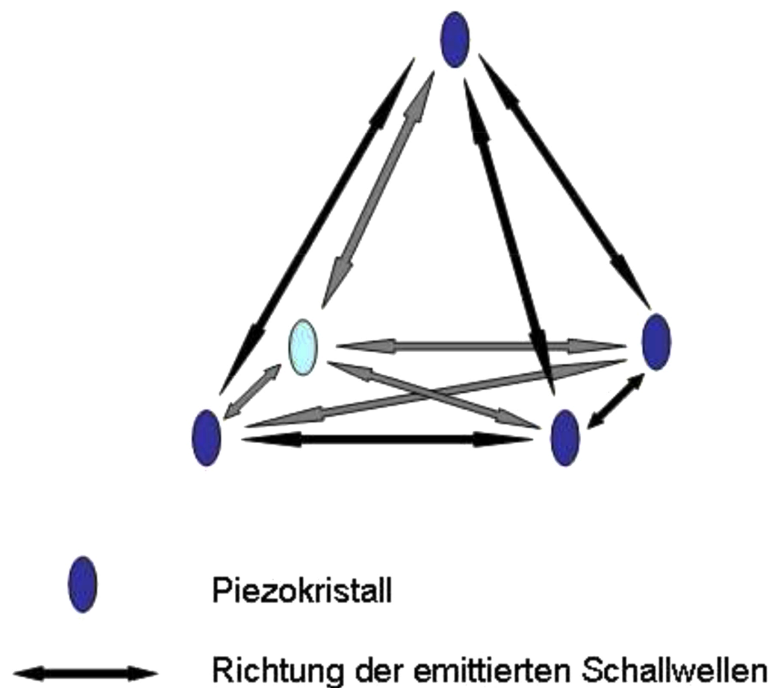


Abb. 2: Schematische Darstellung einer dreidimensionalen Anordnung von piezoelektrischen Kristallen bei der sonomikrometrischen Messung (Benz, 2010)

Die Sonomikrometrie kommt häufig bei experimentellen Studien im kardiovaskulären Bereich zum Einsatz. Sie gilt als Referenzmethode für die Messung von Myokardbewegungen und wird vor allem beim Schwein und beim Hund angewandt (Korinek et al., 2007; Uemura et al., 2011). Weiterhin wird die Sonomikrometrie zur Untersuchung der Kontraktilität der Skelettmuskulatur verwendet, bspw. bei der Taube und der Kröte (Biewener et al., 1998; Ahn et al., 2003). Auch Motilitätsmessungen am Gastrointestinaltrakt wurden mit Hilfe der Sonomikrometrie durchgeführt (Adelson und Million, 2004; Ouyang und Chen, 2005; Gu et al., 2006). Beim Rind wurde die Sonomikrometrie für die Messung des Öffnungsgrades der Zervix während und nach Abkalbung eingesetzt. Hierzu wurden zwei piezoelektrische Kristalle an den kaudalen Rand der Zervix implantiert (Breeveld-Dwarkasin et al., 2002; Breeveld-Dwarkasing et al., 2003; van Engelen et al., 2007a; van Engelen et al., 2007b). Innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Abkalbung lief der Verschluss der Zervix in zwei Phasen ab und zeigte eine Beeinflussung durch uterine und zervikale Kontraktionen (van Engelen et al., 2007b). Benz (2010) untersuchte mit Hilfe von vier piezoelektrischen

Kristallen, die in die Serosa des Uterus implantiert wurden, die Kontraktilität und Größenreduktion des Uterus beim Rind vor und nach der Abkalbung.

Ein Nachteil der Sonomikrometrie ist, dass die piezoelektrischen Kristalle mittels eines invasiven Eingriffs implantiert werden müssen (Goode und Klein, 2002). Weiterhin können passive nicht genau von aktiven Organbewegungen unterschieden werden (Breeveld-Dwarkasing et al., 2003).

2.3 Beeinflussung der uterinen Involution

2.3.1 Physiologische Parameter

Zahlreiche physiologische Parameter haben Einfluss auf die uterine Involution. Mit steigender Anzahl an Abkalbungen verlängert sich die Dauer der Uterusinvolution p.p. (Grunert, 1993; Zain et al., 1995). Ebenso hat auch das Alter des Tieres einen negativen Einfluss auf die Rückbildung des Uterus (Fonseca et al., 1983). Eine hohe Milchleistung ist mit einer schnelleren uterinen Involution verknüpft (Fonseca et al., 1983). Der Zeitpunkt der Abkalbung hat ebenfalls einen Effekt auf die Uterusrückbildung. Bei Kühen, die im Herbst und Winter abkalben, dauert die Involution des Uterus p.p. länger (Grunert, 1993; Zain et al., 1995).

Die Wiederaufnahme der zyklischen Ovaraktivität p.p. ist ein wichtiger Faktor bei der uterinen Involution (Sheldon et al., 2008). Der Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Ovulation nach der Abkalbung und der Fertilität wird in der Literatur recht widersprüchlich dargestellt. Während einige Studien (Thatcher und Wilcox, 1973; Darwash et al., 1997; Kawashima et al., 2006; Gautam et al., 2010) einen positiven Effekt eines kurzen anovulatorischen Intervalls auf die Fertilität beschreiben, ist nach Smith und Wallace (1998) eine späte Ovulation mit einer besseren Fruchtbarkeit assoziiert. Ein saugendes Kalb begünstigt die Rückbildung des Uterus bei der Mutterkuh (Grunert, 1993). Die durch das saugende Kalb hervorgerufene physiologische Anovulation im Puerperium scheint ein natürlicher Schutzmechanismus vor dem immunsuppressiven Einfluss des Progesteron (P_4) zu sein (Chacin et al., 1990; Lewis, 2004) und dadurch eine schnellere Uterusinvolution zu ermöglichen (Riesen, 1968).

Auch Lewis (1997) und Sakaguchi (2011) vermuten, dass eine frühe Gelbkörperbildung und die daraus resultierende P₄ Sekretion einen negativen Einfluss auf die uterine Involution hat. Studien, die eine frühe Ovulation durch eine Implantation des GnRH-Analogons Deslorelin unterdrückten (Silvestre et al., 2009a; Silvestre et al., 2009c), wiesen bei den so behandelten Tieren einen positiven Effekt auf die Rückbildung des Uterus nach. Zudem kann eine frühe Ovulation innerhalb der ersten drei Wochen p.p. das Auftreten eines Corpus luteum (CL) persistens begünstigen (Opsomer et al., 2000; Sheldon et al., 2009b).

2.3.2 Pathologische Parameter

Uteruserkrankungen während des Puerperiums, wie Metritiden und Nachgeburtsverhaltensstörungen, führen zu einer verzögerten Uterusinvolution (Morrow et al., 1966; Fonseca et al., 1983; Mateus et al., 2002). Die Entwicklung einer Metritis hängt von dem Verlauf der Geburt und des Puerperiums, der Immunabwehr der Tiere und der Anzahl und Pathogenität der Erreger ab (De Kruif, 1999; Azawi, 2008). Besonders *T. pyogenes* und gramnegative Anaerobier wirken synergistisch und verursachen gravierende Läsionen im Endometrium (Bonnett et al., 1991a; Sheldon und Dobson, 2004). Das Auftreten von Hypokalzämien nach der Abkalbung hat ebenfalls einen negativen Einfluss auf die Rückbildung des Uterus (Risco et al., 1994). Fonseca et al. (1983) beschrieben eine verzögerte Involution von Uterus und Zervix bei Tieren mit postpartalen Erkrankungen. Hierzu zählen neben Metritiden und Nachgeburtsverhaltensstörungen auch Milchfieber und zystische Ovarfollikel.

2.4 Fragestellungen

Bisher beschriebene Methoden zur Beurteilung der uterinen Involution lassen vor allem eine objektive Bewertung der Größenreduktion des Uterus in der Phase des Frühpuerperiums vermissen.

Daher beschäftigte sich der erste Teil dieser Arbeit mit der Evaluierung folgender Methoden:

- der transrektalen Dopplersonographie der Aa. uterinae als indirekte Methode zur Bewertung der Uterusinvolution bei Kühen mit einem physiologischen Puerperalverlauf während der ersten 14 Tage nach der Abkalbung.
- der Sonomikrometrie als direkte Methode zur Beurteilung der Größenreduktion des Uterus, insbesondere während der klinischen Phase des Puerperiums.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die Auswirkungen verschiedener physiologischer und pathologischer Einflussfaktoren auf die uterine Involution untersucht:

- die Dauer des anovulatorischen Intervalls nach der Abkalbung.
- die Effekte uteriner Puerperalstörungen, wie Metritiden und Nachgeburtshaltungen.
- die Effekte von Metritiden und Hypokalzämien bewertet mittels Sonomikrometrie.

3. Liste der Publikationen (Bestandteil der Habilitationsschrift)

Für die Auflistung der Publikationen wurde statt der chronologischen Reihenfolge, die für die gemeinsame Diskussion der Ergebnisse nötige Reihenfolge gewählt.

1. **Heppelmann, M.**, Krüger, L., Leidl, S., Bollwein, H. (2013):
Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in cows.
Journal of Veterinary Science, 14, 323-327
2. **Heppelmann, M.**, Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015):
Technical note: The use of a sonomicrometry system for monitoring uterine involution in postpartum dairy cows
Journal of Dairy Science, 98, 1862–1869
3. **Heppelmann, M.**, Brömmling, A., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Bollwein, H. (2013):
Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows.
Theriogenology 80, 519-525
4. **Heppelmann, M.**, Brömmling, A., Ulbrich S. E., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015):
Effect of postpartum suppression of ovulation on endometrial inflammation in dairy cows.
Theriogenology 84, 155-162

5. **Heppelmann, M.**, Weinert, M., Brömmling, A., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2013):
The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography of the uterine arteries.
Animal Reproduction Science 143, 1-7

6. **Heppelmann, M.**, Weinert, M., Ulbrich S. E., Brömmling, A., Piechotta, M., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015):
The effect of puerperal uterine disease on histopathological findings and gene expression of pro-inflammatory cytokines of the endometrium in dairy cows.
Theriogenology 85, 1348-1356

7. **Heppelmann, M.**, Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015):
The effect of metritis and subclinical hypocalcaemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry.
Journal of Reproduction and Development 18, 565-569

4. Ergebnisse

4.1 Der uterine Blutfluss während des Frühpuerperiums beim Rind

Heppelmann, M., Krüger, L., Leidl, S., Bollwein, H. (2013). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in cows. *Journal of Veterinary Science* 14, 323-327

Ziel dieser Studie war es, mit Hilfe der transrektalen Dopplersonographie den uterinen Blutfluss im Frühpuerperium beim Rind zu bestimmen. Hierzu wurden sechs primipare Simmental Kühe täglich von Tag 0 (= Tag der Abkalbung) bis Tag 8 und danach jeden zweiten Tag bis Tag 14 untersucht. Die Quantifizierung des uterinen Blutflusses erfolgte mit Hilfe des Durchmessers (D), der mittleren maximalen Blutflussgeschwindigkeit (TAMV), des Pulsatility Index (PI) und des Blutflussvolumens (BFV) der uterinen Arterien ipsi- und contralateral zum ehemals trächtigen Uterushorn. Die deutlichsten Veränderungen der Blutflussparameter waren in den ersten vier Tagen nach der Abkalbung zu erkennen. Die Variablen D, TAMV und BFV fielen ab (ipsilateral: D, 43%, $p > 0,05$; TAMV, 69%, $p < 0,05$; BFV, 87%, $p < 0,05$; contralateral: D, 47%; TAMV, 38%; BFV, 84%; alle $p < 0,05$), während der PI anstieg (ipsilateral: 158%; contralateral: 100%; beide $p < 0,05$). Zwischen Tag 4 und 14 verringerten ($p < 0,05$) sich der ipsilaterale D (12%) und das BFV beider Arterien (ipsilateral 5%; contralateral 8%). Alle anderen Parameter zeigten keine Änderungen nach Tag 4 ($p > 0,05$). Alle Blutflussvariablen korrelierten untereinander ($r > 0,75$ und $r < -0,75$; $p < 0,05$). Die Korrelationen mit dem PI waren negativ, während alle anderen Korrelationen positiv waren. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass beim Rind charakteristische Änderungen des uterinen Blutflusses in den ersten zwei Wochen nach der Abkalbung vorliegen.

4.2 Beurteilung der uterinen Involution des Rindes mittels Sonomikrometrie

Heppelmann, M., Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). *Technical note*: The use of a sonomicrometry system for monitoring uterine involution in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98, 1862–1869

Die Sonomikrometrie erlaubt eine Distanzmessung zwischen zwei piezoelektrischen Kristallen. Sie wurde bisher bei Untersuchungen der Kontraktilität des Herzens, des Gastrointestinaltraktes und der Skelettmuskulatur eingesetzt. Ziel dieser Studie war es, die Sonomikrometrie als Methode für die Beurteilung der Größenreduktion des Uterus p.p. zu evaluieren. Der Tierversuch wurde unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-04-09/1696 vom Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelqualität Niedersachsen genehmigt. Bei sieben pluriparen Holstein-Friesian Kühen (Alter: $3,7 \pm 0,7$ Jahre, Mittelwerte \pm SD) wurden drei Wochen a.p. per Laparotomie vier piezoelektrische Kristalle in longitudinaler Richtung in das Myometrium der großen Krümmung des graviden Uterushorns implantiert. Sonomikrometrische Messungen erfolgten täglich ab zwei Tage a.p. bis 14 Tage p.p. und danach alle zwei Tage bis 28 Tage p.p.. Distanzänderungen zwischen benachbarten Kristallen wurden als relative Strecke (%) zu dem vor der Geburt gemessenen Werten (= 100%) angegeben. Der Durchmesser des ehemals graviden Uterushorns wurde mittels transrektaler B-Mode Sonographie von Tag 10 bis Tag 28 p.p. ermittelt. Die Kühe wurden 39 ± 6 Tage p.p. geschlachtet. Innerhalb des ersten Tags p.p. verringerten ($p < 0,05$) sich die Distanzen zwischen den benachbarten Kristallen um mehr als 50%; zwischen den Tagen 1 und 7 p.p. waren keine weiteren Veränderungen sichtbar ($p > 0,05$). Die Zeit hatte einen Einfluss auf alle Distanzen in der 2. Woche p.p. und auf eine Distanz in der 3. Woche ($p < 0,05$). Der Durchmesser des ehemals graviden Uterushorns korrelierte positiv mit den Distanzen zwischen den benachbarten Kristallen ($r > 0,40$; $p < 0,05$). Die makroskopische Untersuchung des Uterus nach der Schlachtung zeigte, dass acht Kristalle (29%) nicht mehr im Myometrium fixiert waren. Die Messungen von sieben Kristallen

(25%) konnten teilweise bzw. komplett ausgewertet werden. Messwerte von einem Kristall (4%) konnten für die weitere Auswertung nicht verwendet werden. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Sonomikrometrie eine geeignete Methode ist, um die Größenreduktion des Uterus p.p. objektiv zu erfassen.

4.3 Einfluss des Ovulationszeitpunktes p.p. auf die Uterusinvolution beim Rind

Heppelmann, M., Brömmling, A., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Bollwein, H. (2013). Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows. *Theriogenology* 80, 519-525

Heppelmann, M., Brömmling, A., Ulbrich S. E., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). Effect of postpartum suppression of ovulation on endometrial inflammation in dairy cows. *Theriogenology* 84, 155-162

Der Einfluss des ersten Ovulationszeitpunktes nach der Abkalbung auf die Fertilität beim Rind wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Studien mit hormoneller Inhibition einer frühen Ovulation beschrieben einen positiven Effekt auf die Uterusinvolution. Der Tierversuch wurde unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-04-08/1592 vom Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelqualität Niedersachsen genehmigt. Ziel dieser Studie war es, den Einfluss des Zeitpunktes der ersten Ovulation p.p. auf die uterine Involution bei Milchkühen ohne und mit Puerperalstörungen zu untersuchen. Die Verhinderung der Ovulation und Ausbildung eines CL erfolgte im Gegensatz zu vorherigen Studien mechanisch mittels transvaginaler Follikelpunktion (FP) bis zum 42. Tag p.p.. Dreiundfünfzig laktierende Holstein-Friesian Kühe (Alter: $3,4 \pm 1,2$ Jahre, Median \pm MAD) wurden in Abhängigkeit vom Vorkommen einer Puerperalstörung in zwei Gruppen (PS- und PS+) eingeteilt. Tiere der Gruppe PS+ hatten eine Metritis und/oder eine Retentio secundinarum, während PS- gesund waren. Zusätzlich wurden die Tiere randomisiert einer Gruppe ohne Inhibition der Ovulation (FP-) und einer Gruppe mit Inhibition der Ovulation mittels FP (FP+) zugeordnet. Diese Einteilung resultierte in den folgenden Gruppen: PS-FP- ($n = 15$), PS-FP+ ($n = 13$), PS+FP- ($n = 13$) und PS+FP+ ($n = 12$). An Tag 8, 11, 18, 25 und dann alle 10 Tage bis Tag 65 erfolgte eine Allgemeinuntersuchung, eine vaginale Untersuchung, eine transrektale Palpation und eine transrektale B-Mode Sonographie der

Zervix, des Uterus und der Ovarien (Tag 0 = Tag der Kalbung). Nach hormoneller Synchronisation der Ovulation (Cloprostenol zwischen Tag 55 und 60, GnRH zwei Tage später) wurden die Kühe während des nächsten spontanen Östrus besamt. Endometriumpuben (EP; Tupfer und Biopsie) wurden in der FP- Gruppe während des zweiten Östrus (EP1; ca. Tag 40 p.p.) und während des Östrus nach der Synchronisation (EP2) entnommen. In der FP+ Gruppe erfolgte die Beprobung während des ersten Östrus (EP1; ca. Tag 49 p.p.) und ebenfalls während des Östrus nach der Synchronisation (EP2). Die Kühe ovulierten im Durchschnitt an Tag $21,0 \pm 6,0$ (PS-FP-), $50,0 \pm 4,0$ (PS-FP+), $16,0 \pm 3,0$ (PS+FP-) und $48,0 \pm 2,0$ (PS+FP+) p.p.. Die Gützeit und der Erstbesamungserfolg wurden nicht durch die Inhibition der Ovulation beeinflusst ($p > 0,05$). Kühe der Gruppe PS-FP+ zeigten sonographisch geringere ($p < 0,05$) Uterushorn- und Zervikaldurchmesser als Kühe der Gruppe PS-FP-. Kühe der Gruppe PS-FP+ hatten eine geringere ($p < 0,05$) Prävalenz von eitrigem Vaginalausfluss und einen kleineren ($p < 0,05$) Uterus. Die Inhibition der Ovulation hatte keine Auswirkungen auf die Häufigkeit positiver bakterielle Befunde im Uterus ($p > 0,05$). In der PS+ Gruppe zeigten Kühe ohne FP histopathologisch eine höhergradige Ausprägung von Endometritiden zum Zeitpunkt EP2 ($p < 0,05$). Die endometriale Expression von *Interleukin (IL)-1 α* (PS- an EP1, PS+ an EP2) und von *IL1 β* (PS- und PS+ an EP1) war in der FP- Gruppe höher ($p < 0,05$) als in der FP+ Gruppe. Die Ergebnisse der durchgeführten Studie zeigen, dass die Inhibition einer frühen Ovulation p.p. sowohl bei Tieren mit als auch bei Tieren ohne Puerperalstörungen zu einer schnelleren Uterusinvolution und -regeneration führt.

4.4 Einfluss von Puerperalstörungen auf die Uterusinvolution beim Rind

Heppelmann, M., Weinert, M., Brömmling, A., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2013). The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography of the uterine arteries. *Animal Reproduction Science* 143, 1-7

Ziel dieser Studie war es, mittels transrektaler Dopplersonographie den Einfluss von Puerperalstörungen auf den uterinen Blutfluss zu untersuchen. Der Tierversuch wurde unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-04-08/1592 vom Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelqualität Niedersachsen genehmigt. Laktierende Holstein-Friesian Kühe ($n = 44$; Alter: $3,7 \pm 1,4$ Jahre, Median \pm MAD) wurden in Abhängigkeit von der Diagnose einer Puerperalstörung in zwei Gruppen eingeteilt (PS-; $n = 23$ und PS+; $n = 21$). Eine Puerperalstörung wurde als das Vorliegen einer Metritis und/oder Retentio secundinarum definiert. An Tag 8, 11, 18, 25 p.p. und dann an jedem 10. Tag bis Tag 65 p.p. wurden eine allgemeine Untersuchung, eine Vaginoskopie, eine transrektale Palpation und B-Mode Sonographie durchgeführt. Eine transrektale Dopplersonographie der Uterusarterien erfolgte an Tag 8 p.p., in der Lutealphase nach der zweiten Ovulation (Tag 40 bis 60 p.p.) und in der folgenden Lutealphase (Tag 63 bis 75 p.p.). Kühe der Gruppe PS+ hatten einen größeren Uterus ($p < 0,05$) als Tiere der Gruppe PS-. Die sonographische Untersuchung an Tag 11 p.p. ergab einen größeren Uterushorndurchmesser ($p < 0,05$) bei Tieren der PS+ Gruppe als bei gesunden Tieren. Uterusgröße und Uterushorndurchmesser zeigten einen früheren Abfall p.p. bei Kühen ohne Puerperalstörungen ($p < 0,05$). An Tag 8 p.p. war bei Tieren der PS+ Gruppe das BFV größer und der PI kleiner ($p < 0,05$) als bei Tieren der PS- Gruppe. Bei den Kühen der PS- Gruppe war, im Gegensatz zu den Tieren der PS+ Gruppe, eine weitere Reduktion des BFV nach Tag 45 p.p. zu verzeichnen ($p < 0,05$). Die Ergebnisse der transrektalen Dopplersonographie dieser Studie zeigen einen Einfluss von Puerperalstörungen auf den uterinen Blutfluss beim Rind.

Heppelmann, M., Weinert, M., Ulbrich S. E., Brömming, A., Piechotta, M., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). The effect of puerperal uterine disease on histopathological findings and gene expression of pro-inflammatory cytokines of the endometrium in dairy cows. *Theriogenology* 85, 1348-1356

Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Einflusses von Puerperalstörungen auf histopathologische Befunde und die Expression von proinflammatorischen Zytokinen im Endometrium. Der Tierversuch wurde unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-04-08/1592 vom Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelqualität Niedersachsen genehmigt. Hierfür wurden 49 laktierende Holstein-Friesian Kühe (Alter: $3,7 \pm 1,4$ Jahre, Median \pm MAD) untersucht. Diese wurden in Abhängigkeit vom Vorkommen von Puerperalstörungen (Metritis und /oder Retentio secundinarum) in zwei Gruppen eingeteilt (PS–; n = 29, PS+; n = 21). An Tag 8, 11, 18, 25 p.p. und dann jeden 10. Tag bis Tag 65 p.p. wurden eine allgemeine Untersuchung, eine Vaginoskopie, eine transrektale Palpation und eine B-Mode Sonographie durchgeführt. Endometriumproben (EP; Tupfer und Biopsie) wurden während des Östrus ca. an Tag 42 p.p. (EP1) und während des Östrus nach Synchronisation (EP2; Cloprostenol zwischen Tag 55 und 60, GnRH zwei Tage später) entnommen. Günstzeit und Trächtigkeitsindex wurden berechnet. Die Häufigkeit von bakteriologisch positiven Endometriumtupfern und von histopathologisch diagnostizierten Endometritiden zeigte keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p > 0,05$). Kühe mit Puerperalstörungen hatten eine höhere Prävalenz von chronisch, eitrigem Endometritiden (ES1, $p = 0,07$) und von Angiosklerosen (ES2, $p < 0,05$) als gesunde Tiere. Die endometriale Expression von *IL1 α* (ES1), *IL1 β* (ES1) und *TNF α* (ES1 und ES2) war in der PS+ Gruppe höher ($p < 0,05$) als in der PS– Gruppe. Die Korrelationen zwischen der Expression von *TNF α* zum Zeitpunkt ES2 und der Günstzeit bzw. dem Trächtigkeitsindex waren für die PS– Tiere negativ und für die PS+ Tiere positiv. Zusammenfassend betrachtet hat das Auftreten von uterinen Puerperalstörungen Auswirkungen auf histopathologische Befunde und die Expression von proinflammatorischen Zytokinen im Endometrium während der postpuerperalen Phase. Dies deutet auf eine gestörte

Elimination der Inflammation im Uterus bei Tieren mit uterinen Puerperalstörungen hin.

4.5 Einfluss von Metritis und Hypokalzämie auf die Uterusinvolution beim Rind

Heppelmann, M., Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). The effect of metritis and subclinical hypocalcaemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry. *Journal of Reproduction and Development* 18, 565-569

Mit Hilfe der Sonographie und der Sonomikrometrie wurde der Einfluss von Metritiden (ME) und subklinischer Hypokalzämie (SH) auf die Größenreduktion des Uterus bei Milchkühen in den ersten vier Wochen nach der Abkalbung untersucht. Der Tierversuch wurde unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-04-09/1696 vom Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelqualität Niedersachsen genehmigt. Bei zwölf pluriparen Holstein-Friesian Kühen (Alter: $3,4 \pm 0,4$ Jahre, Mittelwerte \pm SD) wurden drei Wochen a.p. per Laparotomie vier piezoelektrische Kristalle in longitudinaler Richtung in das Myometrium der großen Krümmung des tragenden Uterushorns implantiert. Sonomikrometrische Messungen erfolgten täglich ab zwei Tage a. p. bis 14 Tage p.p. und alle zwei Tage bis 28 Tage p.p.. Distanzänderungen zwischen benachbarten Kristallen wurden als relative Strecke (%) zu einem Basiswert a.p. (= 100%) angegeben. Der Durchmesser des ehemals tragenden Uterushorns wurde mittels transrektaler B-Mode Sonographie von Tag 10 bis Tag 28 p.p. erhoben. Die Kühe wurden retrospektiv in folgende Gruppen eingeteilt. Kühe mit Metritis (ME⁻; n = 7) und Kühe ohne Metritis (ME⁺; n = 5) bzw. normokalzämische (SH⁻; Ca > 2,0 mmol/l an Tag 1 bis 3 p.p.; n = 5) und subklinisch hypokalzämische Tiere (SH⁺; Ca < 2,0 mmol/l in einer Probe zwischen Tag 1 und 3 p.p.; n = 7). Das Vorliegen einer Metritis hat keinen ($p > 0,05$) Einfluss auf die mittels Sonomikrometrie gemessene Länge des ehemals graviden Uterushorns; der sonographisch bestimmte Durchmesser des ehemals graviden Uterushorns war jedoch in der 3. Woche p.p. ($p < 0,05$) bei Tieren der ME⁺ Gruppe größer als bei Tieren der ME⁻ Gruppe. Die Reduktion der Uteruslänge war bei den hypokalzämischen Tieren im Vergleich zu normokalzämischen Tieren in Woche 2 und 3 p.p. verzögert ($p < 0,05$). Der Uterusdurchmesser

zeigte keine Unterschiede zwischen den beiden SH Gruppen ($p > 0,05$). Zusammenfassend ist festzustellen, dass beide Erkrankungen die Größenreduktion innerhalb der ersten 28 Tage nach der Abkalbung negativ beeinflussen. Der größere Uterusdurchmesser bei Tieren mit Metritis scheint mit einer Ansammlung von Lochialsekret im Uteruslumen assoziiert zu sein, während die verzögerte Reduktion der Uteruslänge bei hypokalzämischen Tieren durch eine herabgesetzte Kontraktilität des Myometriums zu erklären ist.

5. Übergreifende Diskussion

5.1 Methoden zur Beurteilung der Uterusinvolution

Die mittels transrektaler Dopplersonographie bei Färsen in den ersten 14 Tagen nach der Abkalbung festgestellten Änderungen im uterinen Blutfluss zeigten einen charakteristischen Verlauf. Besonders deutlich waren sie in den ersten vier Tagen nach der Geburt (Publikation 1). Diese Beobachtung steht in direktem Zusammenhang mit der massiven Reduktion von Uterusgröße und -gewicht in diesem Zeitraum (Gier und Marion, 1968). Die Reduktion wird unter anderem durch rhythmische, peristaltische Kontraktionen des Myometriums verursacht, die in den ersten drei Tagen nach der Abkalbung auftreten. Während dieser Zeit schrumpfen die Muskelfasern von 750 μ auf 200 μ (Van Camp, 1991). Weiterhin ist der Auswurf eines Großteils der Lochien in den ersten Tagen für die Reduktion von Größe und Gewicht des Uterus verantwortlich (Gier und Marion, 1968; Van Camp, 1991). Während das Gewicht des Uterus in den ersten fünf Tagen p.p. um 50% (Gier und Marion, 1968) bis 66% (Morrow et al., 1969) abnimmt, fällt das BFV innerhalb von vier Tagen nach der Abkalbung um über 80% ab. Ähnliche Resultate erzielten auch Guilbault et al. (1984), die den Blutfluss invasiv mittels eines Transducers an der ipsilateralen A. uterina erfassten. Hier konnte eine Abnahme des BFV von 84% innerhalb der ersten vier Tage nach der Abkalbung verzeichnet werden. Bis zum 14. Tag p.p. fällt das BFV um weitere 9% ab, während sich das Gewicht des Uterus um weitere 30% verringert (Gier und Marion, 1968). Dies deutet darauf hin, dass sich die Abnahme des BFV p.p. durchaus mit der Größenreduktion des Uterus vergleichen lässt, aber der Abfall des Blutflusses schneller und früher stattfindet als die Uterusinvolution. Das BFV war positiv mit dem Gefäßdurchmesser der Aa. uterinae und dem TAMV korreliert. Die Korrelation zwischen BFV und Gefäßdurchmesser ($r = 0,68$) war schwächer als zwischen BFV und TAMV ($r = 0,87$) im ipsilateralem Gefäß an Tag 0 und 1 p.p. (Publikation 1). Hieraus kann geschlossen werden, dass der Rückgang des Blutflusses kurz nach der Abkalbung vor allem auf einem Abfall der TAMV und weniger auf einer Abnahme des Gefäßdurchmessers der A. uterina beruht.

Eine Studie des uterinen Blutflusses über einen längeren Zeitraum während des Puerperiums zeigte erwartungsgemäß eine Abnahme des BFV in der ipsi- und contralateralen A. uterina zwischen den untersuchten Tagen 8 und 45 p.p. (Publikation 5). Dies ist mit den Ergebnissen von Krüger et al. (2009) vergleichbar. Hier ergaben engmaschige Untersuchungen einen Abfall des BFV bis Tag 28 nach der Abkalbung. Erstaunlicherweise konnte zwischen Tag 45 und 65 p.p. eine weitere Verringerung des BFV in beiden Aa. uterinae festgestellt werden. Hieraus kann entsprechend den Beobachtungen von Krüger et al. (2009) gefolgert werden, dass die uterinen Rückbildungsprozesse anscheinend nicht, wie bisher beschrieben (Okano und Tomizuka, 1987; Kamimura et al., 1993), mit 40-42 Tagen abgeschlossen sind. Es scheinen nach Ende des Puerperiums noch weitere Umbauprozesse im Gefäßbett des Uterus stattzufinden. Zwar wurde von Krüger et al. (2009) keine weitere Abnahme des BFV nach Tag 28 p.p. beobachtet, dafür konnten bis zum 84. Tag nach der Abkalbung Veränderungen des PI nachgewiesen werden. Auch bei Frauen wurde der höchste PI Wert erst 100 Tage nach der Geburt gemessen (Tekay und Jouppila, 1993); hier ist die makroskopische und mikroskopische Involution des Uterus nach sechs bis acht Wochen abgeschlossen (Salamonsen, 2003). Die Autoren hatten allerdings keine genaue Erklärung für diese andauernden Veränderungen, aber ein Rückgang der PI Werte auf ein normales Level nach Einsetzen der Menstruation lässt auf einen hormonellen Hintergrund schließen (Jaffa et al., 1996). Dies konnten Krüger et al. (2009) nicht bestätigen. Das Wiedereinsetzen der zyklischen Ovaraktivität nach der Abkalbung hatte keinen Einfluss auf die uterinen Blutflussparameter.

Aufgrund des charakteristischen Verlaufs des uterinen Blutflusses, insbesondere während des Frühpuerperiums, und der Übereinstimmung mit der Größenreduktion des Uterus kann die transrektale Dopplersonographie der Aa. uterinae als eine indirekte, aber objektive Methode zur Beurteilung der Uterusinvolution angesehen werden. Weiterhin war es möglich, uterine Rückbildungsprozesse im Gefäßbett nachzuweisen, die makroskopisch und lichtmikroskopisch bisher nicht erfasst werden konnten und die weit bis in den postpuerperalen Zeitraum hinein stattfinden.

Mit Hilfe der Sonomikrometrie konnten Streckenmessungen zwischen den im Myometrium implantierten Kristallen vorgenommen werden (Publikation 2). Aufgrund der unterschiedlichen Kontraktibilität der verschiedenen Uterusbereiche während des chi-

chirurgischen Eingriffs und der Veränderungen der Uterusgröße zwischen Kristallimplantation und Abkalbung waren die absoluten Strecken zwischen den Kristallen nicht miteinander vergleichbar. Aus diesem Grund wurden für die weiteren Auswertungen nicht die absoluten, sondern die relativen Strecken zwischen zwei Kristallen in Beziehung zu einem Basiswert a.p. (100%) verwendet. Die relativen Strecken zwischen den benachbarten Kristallen hatten ihren größten Abfall mit über 50% am ersten Tag nach der Abkalbung. Im Gegensatz zu den beschriebenen Größenreduktionen des Uterus (Gier und Marion, 1968; Morrow et al., 1969; Van Camp, 1991) und dem Abfall des Blutflusses (Publikation 1) verringerten sich die relativen Strecken an den restlichen Tagen der 1. Woche p.p. nicht weiter; erst in der 2. Woche war eine weitere Abnahme sichtbar. Diese divergierenden Ergebnisse lassen sich durch die unterschiedlichen Involutionenkurven der Größenparameter des Uterus erklären. Da die piezoelektrischen Kristalle entlang der großen Krümmung des tragenden Hornes implantiert waren, wurde bei der sonomikrometrischen Messung die Länge des Uterushorns erfasst. Die Uteruslänge zeigt nach der Abkalbung eine langsamere Abnahme als das Uterusgewicht und der -querschnitt. Während sich das Gewicht und der Durchmesser um 62 und 57% bis Tag 8 p.p. verringerten, reduziert sich die Länge des Uterus nur um 40% (Gier und Marion, 1968). Ein kritischer Aspekt bei der Etablierung der Methode war die Validierung der sonomikrometrischen Messungen. Da keine Technik für die Erfassung der Uteruslänge *in vivo* bekannt war, wurde zum Vergleich die B-Mode Sonographie mit Messung des Uterushorndurchmessers verwendet. Die Korrelationen zwischen den beiden Messmethoden waren nur mäßig ($r = 0,43-0,63$). Aufgrund der schon oben angesprochenen unterschiedlichen Involutionenkurven der Uteruslänge und des -durchmessers war eine engere Korrelation zwischen den beiden Parametern nicht zu erwarten. Die Implantation und Fixation der Kristalle im Myometrium war ein wichtiger Punkt bei der Etablierung dieser experimentellen Methode. Nach der Geburt des Kalbes und während der Rückbildung des Uterus kommt es zu einer schnellen und massiven Größenreduktion, die eine starke Spannung auf die Fixation der Kristalle ausüben kann. Bei der makroskopischen Untersuchung des Uterus nach der Schlachtung der Tiere waren acht der 28 Kristalle nicht mehr adäquat im Myometrium implantiert. Hiervon konnten sieben Kristalle schon anhand der sonomikrometrischen Messungen *intra vitam* als losgelöst einge-

stuft werden. Losgelöste Kristalle zeigten bei den Messungen ohne einen offensichtlichen Grund plötzliche Distanzänderungen. Nach Ausschluss der fehlerhaften Messwerte konnten die Daten von fast allen losgelösten Kristallen für die weitere Analyse verwendet werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Sonomikrometrie für eine objektive Beurteilung der uterinen Größenreduktion geeignet ist. Hier ist vor allem herauszuheben, dass im Gegensatz zu anderen Methoden wie z. B. der transrektalen B-Mode Sonographie (Kamimura et al., 1993; Melendez et al., 2004), die Sonomikrometrie auch in den ersten Tagen nach der Abkalbung zuverlässige Werte liefert. Allerdings muss man bei der Anwendung der Sonomikrometrie bedenken, dass nur die Reduktion der Uteruslänge erfasst werden kann und deswegen eine Kombination mit einer anderen Untersuchungstechnik erfolgen sollte.

5.2 Einfluss des Ovulationszeitpunktes p.p. auf die uterine Involution

Die Inhibition einer frühen Ovulation p.p. mittels transvaginaler FP hat einen positiven Effekt auf die Uterusinvolution sowohl bei gesunden Kühen als auch bei Kühen mit uterinen Puerperalstörungen (Publikation 3 und 4; Tab. 1).

Die transvaginale FP ist als experimentelles Verfahren zur Verhinderung der Ovulation geeignet. Das anfängliche drei- bis viertägige Punktionsintervall von Follikeln ≥ 10 mm wurde auf zwei- bis dreitägige Abstände mit Follikeln ≥ 6 mm reduziert, da bei dem ersten Schema 15 Tiere vor Tag 42 p.p. ovulierten. Drei FP+ Kühe wurden aus der Studie ausgeschlossen, da sie trotz ausgebliebener Ovulation P_4 Konzentrationen von > 1 ng/ml zeigten. In diesen Fällen wurde davon ausgegangen, dass sich Gelbkörpergewebe aus der Wand der punktierten Follikel gebildet hat. Dieses Gewebe erreicht zwar nicht die Größe eines zyklischen CL, ist aber durchaus endokrin aktiv und in der Lage fast physiologische mittzyklische P_4 Konzentrationen zu produzieren (Stubbings und Walton, 1995, Petyim et al., 2000). Entsprechend den Ergebnissen anderer Untersuchungen (Stubbings und Walton, 1995; Petyim et al., 2000), fand bei allen Tieren der FP Gruppe sechs bis acht Tage nach der letzten Follikelaspersion die Ovulation statt. Diese schnelle Rückkehr zur zyklischen Ovaraktivität lässt sich darauf zurückführen, dass die FP den inhibitorischen Effekt von Östra-

diol und Inhibin auf FSH verhindert und so die Anbildung einer neuen Follkelkohorte und Wachstum eines dominanten Follikels nach dem Beenden der FP gefördert wird (Petyim et al., 2000). Im Gegensatz zur Verhinderung der Ovulation mittels Implantation eines GnRH-Analogons Deslorelin, appliziert bis Tag 7 p.p. (Padula und Macmillan, 2002; Silvestre et al., 2009a; Silvestre et al., 2009b; Silvestre et al., 2009c), konnte durch die FP ein direkter hormoneller Einfluss der Methode auf die Uterusinvolution ausgeschlossen werden. Bei dem Einsatz von GnRH Analoga ist es denkbar, dass diese einen positiven Einfluss auf die Uteruskontraktilität (Giammarino et al., 2009) ausüben und es auf diese Weise, unabhängig von einer ausbleibenden Ovulation, zu einer schnelleren Uterusinvolution kommt.

Die **Größenreduktion** als Teil der Uterusinvolution wurde sowohl bei gesunden Kühen als auch bei Kühen mit Puerperalstörungen durch die Inhibition der Ovulation mittels FP p.p. beeinflusst. Gesunde FP Kühe zeigten einen kleineren Zervixdurchmesser und eine schnellere Reduktion des Uterushorndurchmessers, während FP Tiere mit Puerperalstörungen eine geringere Uterusgröße nach FP aufwiesen (Publikation 3). Die Inhibition einer frühen Ovulation p.p. durch Applikation des GnRH-Analogons Deslorelin hatte in anderen Studien (Silvestre et al., 2009a; Silvestre et al., 2009c) zu ähnlichen Ergebnissen geführt. Behandelte Tiere zeigten ebenfalls kleinere Zervix- und Uterushorndurchmesser als unbehandelte Tiere.

Auch die **Elimination der Inflammation** des Genitaltraktes p.p. wurde durch die Inhibition der Ovulation beeinflusst. In der Gruppe mit Puerperalstörungen wiesen die Tiere ohne FP an Tag 35 nach der Abkalbung eine höhere Prävalenz von eitrigem Vaginalausfluss auf als Tiere mit FP (Publikation 3). Weiterhin zeigten diese Tiere bei der pathohistologischen Untersuchung des Endometriums eine höhergradige Endometritis an Tag 60 p.p. (Publikation 4). Die Prognose für die weitere Fertilität eines Tieres bei Vorliegen einer Endometritis hängt von deren Schweregrad ab. Während geringgradige Endometritiden keinen oder nur einen geringen nachteiligen Effekt auf die weitere Reproduktionsleistung haben, sind hochgradige Endometritiden mit Infertilität verknüpft (LeBlanc et al., 2002a; Merbach, 2012). Interessanterweise wurde die Prävalenz von Endometritiden bei der histologischen Untersuchung nicht durch den Zeitpunkt der Ovulation p.p. beeinflusst. Dies stimmt nicht mit den klinischen Befunden überein; hier zeigten die Tiere der PS+FP- Gruppe vermehrt eitrigem Vaginal-

ausfluss. Ein Grund für die abweichenden Ergebnisse bei der klinischen bzw. der pathohistologischen Untersuchung könnten die differierenden Untersuchungszeiträume sein. Während die Unterschiede im Auftreten von vaginalem Ausfluss zwischen früh und spät ovulierenden Kühen für Tag 30 (Silvestre et al., 2009a) und 35 p.p. angegeben werden, wurden in der eigenen Arbeit Endometriumbiopsien erst ab Tag 40 nach der Abkalbung entnommen. Da die Abheilung der klinischen Symptome nach uterinen Infektionen in der Literatur im Schnitt mit vier Wochen p.p. angegeben wird (LeBlanc et al., 2002b), ist wohl davon auszugehen, dass bei einem Großteil der Tiere zum Zeitpunkt der ersten Probenahme die Endometritis schon abgeheilt war. Eine andere Erklärung für die abweichenden Befunde könnte eine mangelnde Übereinstimmung zwischen dem Auftreten von eitrigem Vaginalausfluss und der zytologischen Diagnose einer Endometritis sein (Dubuc et al., 2010; LeBlanc et al., 2011). Der sichtbare Ausfluss kann nicht nur auf einer Endometritis beruhen, sondern andere Ursachen wie Inflammationen der Vagina und Zervix haben.

Die endometriale Expression von proinflammatorischen Zytokinen war bei den Tieren ohne Inhibition der Ovulation erhöht (Publikation 4). Gesunde Tiere mit einem kurzen anovulatorischen Intervall nach der Abkalbung zeigten eine höhere Expression von *IL-1 α* und *IL-1 β* an Tag 40-50 p.p. als gesunde FP-Kühe. Auch in der Gruppe mit Puerperalstörungen war *IL-1 α* (Tag 60 p.p.) und *IL-1 β* (Tag 40-50 p.p.) höher bei den Tieren ohne Beeinflussung des Zyklus als bei FP-Kühen. Interleukin-1 α und - β spielen eine wichtige Rolle in der Frühphase einer Entzündung. Sie stimulieren Akute-Phase-Proteine und andere Zytokine (IL-6) bzw. verstärken die Lymphozytenantwort und die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (Dinarello, 1994; Rider et al., 2013). Da die klinische und die subklinische Endometritis mit einer erhöhten Expression von IL-1 einhergeht (Gabler et al., 2009; Herath et al., 2009; Fischer et al., 2010), lässt die gesteigerte Expression bei Tieren mit einer frühen Ovulation p.p. auf eine persistierende Entzündung des Endometriums bis in die postpuerperale Phase hinein schließen. Ein Großteil der Unterschiede zwischen den FP Gruppen in der Expression von *IL-1* war zum ersten Entnahmezeitpunkt (Tag 40-50 p.p.) zu erkennen. Dies spricht für eine Elimination der endometrialen Entzündung bei den Tieren ohne FP zwischen Tag 40-50 und Tag 60 p.p.. Im Gegensatz zu den histologischen Befunden trat die erhöhte Expression von *IL-1* unabhängig von der Diagnose einer

Puerperalstörung auf, so dass auch die Elimination der physiologischen, postpartalen Entzündung des Endometriums bei früh ovulierenden Tieren im Gegensatz zu Tieren aus der FP Gruppe verzögert erscheint. In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen (Gabler et al., 2009; Fischer et al., 2010; Ghasemi et al., 2012) war die Expression von *IL1 α* , *IL1 β* , *IL6* und *TNF α* , abgesehen von der Gruppeneinteilung, bei der histopathologischen Diagnose einer Endometritis erhöht.

Auf die **Elimination der bakteriellen Kontamination** hatte der Zeitpunkt der Ovulation p.p. keinen Einfluss (Publikation 4). Dennoch wiesen die oben genannten Tiere der Gruppe mit einer höhergradigen Endometritis (PS+FP-) numerisch die höchste Anzahl an positiven Kulturen an Tag 60 p.p. auf. Die Prävalenz von bakteriell positiven Ergebnissen lag bei 19% an Tag 40-50 p.p. und bei 23% an Tag 60 p.p. Auch Werner et al. (2012) konnten an Tag 24 nach der Abkalbung bei 28,5% der Kühe eine bakterielle Infektion des Uterus zeigen. Die am häufigsten isolierten Bakterien *E. coli*, *Bacillus spp.* und *T. pyogenes* wurden ebenfalls in anderen Untersuchungen nachgewiesen (Bonnett et al., 1991a; Werner et al., 2012).

Die Fertilität der Tiere wurde nicht vom Zeitpunkt der Ovulation p.p. beeinflusst. Weder die Gützeit noch der Erstbesamungserfolg zeigten Unterschiede zwischen den FP Gruppen. Dieses Ergebnis ähnelt den Resultaten einer anderen Untersuchung (Sakaguchi et al., 2004), steht aber im Gegensatz zu den Ergebnissen einer Studie von Smith und Wallace (1998), bei der eine frühe Ovulation mit einer schlechteren Fertilität assoziiert war. Allerdings sind die Tierzahlen in der eigenen Studie als zu gering anzusehen, um eine sinnvolle Aussage über die Fertilität treffen zu können. Das Auftreten von persistierenden Gelbkörpern (n = 5) konnte nur in der Gruppe PS+FP- beobachtet werden. Auch Opsomer et al. (2000) und Sheldon et al. (2009b) beschreiben, dass eine frühe Ovulation bei Vorliegen einer uterinen Infektion das Auftreten von persistierenden Gelbkörpern begünstigt. Es wird vermutet, dass durch die uterine Infektion das Endometrium geschädigt ist und damit die PGF Sekretion zugunsten des luteotrop wirkenden PGE verschoben wird (Sheldon et al., 2009b).

Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, dass die experimentelle Inhibition einer frühen Ovulation und damit der lutealen Aktivität mittels transvaginaler FP, unabhängig von dem Vorliegen einer uterinen Puerperalstörung, zu einer verbesserten Uterusinvolution führt. Dies drückt sich in einer schnelleren Größenreduktion und besse-

ren Elimination der uterinen Inflammation aus. Hiermit wird die Annahme unterstützt, dass durch die immunsuppressive Wirkung von P₄ (Killingbeck und Lamming, 1963; Chacin et al., 1990) ein negativer Effekt auf die uterine Involution ausgeübt wird. Eine frühe Induktion des Zyklus p.p. mittels GnRH (Britt et al., 1974; Nash et al., 1980) kann daher, auch vor dem Hintergrund eines erhöhten Risikos der Entwicklung persistierender Gelbkörper, nicht empfohlen werden.

5.3 Einfluss von Erkrankungen im Puerperium auf die Uterusinvolution

Das Auftreten von uterinen Puerperalstörungen und von subklinischen Hypokalzämien hat einen negativen Einfluss auf die Uterusinvolution (Publikation 5-7, Tab. 1).

Unter dem Begriff „uterine Puerperalstörungen“ wurden in den vorliegenden Studien eine Retentio secundinarum und/oder Metritis zusammengefasst. Eine Retentio secundinarum lag vor, wenn die Nachgeburt nicht innerhalb von 24 Stunden nach der Abkalbung komplett abgegangen war. Die Diagnose einer Metritis wurde innerhalb der ersten 21 Tage p.p. mit Hilfe der transrektalen Palpation und der vaginalen Untersuchung nach der Definition von Sheldon et al. (2009a) gestellt. Hierbei ist die Metritis durch einen vergrößerten Uterus und durch einen wässrigen, rotbraunen bis viskösen, weißgrauen, übelriechenden Ausfluss gekennzeichnet.

Die Diagnose einer uterinen Puerperalstörung hatte einen Effekt auf die **Größenreduktion** des Uterus (Publikation 5). Bei gesunden Tieren war der Uterus kleiner und wies einen geringeren Uterushorndurchmesser an Tag 11 p.p. auf als bei Tieren mit einer Puerperalstörung. Zudem reduzierten sich bei den gesunden Tieren die Größe und der Durchmesser im Verlauf des Puerperiums schneller. Dies ist mit den Ergebnissen anderer Arbeiten vergleichbar (Fonseca et al., 1983; Mateus et al., 2002).

Der **uterine Blutfluss** wurde ebenfalls von dem Vorliegen einer uterinen Puerperalstörung beeinflusst (Publikation 5). An Tag 8 p.p. zeigten die Tiere mit Puerperalstörungen ein höheres BFV und niedrigere PI-Werte als gesunde Kühe. Bei Frauen mit Störungen des Puerperiums infolge von Nachgeburtshaltungen und Endometritiden konnte ebenfalls ein verringerter Gefäßwiderstand beobachtet werden (Kirkinen et al., 1988; Mulic-Lutvica et al., 2009). Da die Uterusinvolution neben der Größenre-

duktion auch die Vasokonstriktion der uterinen Gefäße umfasst (Gier und Marion, 1968), werden die Abweichungen der Blutflussparameter bei Tieren der Gruppe PS+ als Ausdruck einer verzögerten uterinen Involution interpretiert. Allerdings sind die kausalen Zusammenhänge zwischen den beiden Vorgängen nicht ganz klar. In der Humanmedizin wird darüber diskutiert, ob ein erhöhter uteriner Blutfluss die Ursache für eine verzögerte Uterusinvolution ist (Kirkinen et al., 1988; Sohn et al., 1988). Prostaglandin $F_{2\alpha}$ als vasokonstriktive Substanz scheint keine Rolle zu spielen, da keine Unterschiede in den PGFM Konzentrationen beider Gruppen an Tag 8 p.p. vorlagen. Weiterhin könnte der vasodilatierende und myorelaxierende Effekt von PGE_2 einen Einfluss auf die Unterschiede im uterinen Blutfluss haben. Kühe mit einer schweren postpartalen Endometritis wiesen höhere PGE_2 Konzentrationen im Uterusinhalt auf als Kühe mit einer leichten Endometritis (Mateus et al., 2003). Im Gegensatz zu den gesunden Tieren zeigten die Tiere der Gruppe PS+ keinen weiteren Abfall des BFV zwischen Tag 45 und 65 p.p.. Als Ursache für den fehlenden Rückgang des Blutflusses können Gefäßveränderungen in Betracht gezogen werden. Histologisch werden die Angiopathien am Uterus des Rindes in Angiosklerosen und Perivaskulitiden eingeteilt (Merbach, 2012). Tatsächlich zeigten die Tiere mit Puerperalstörungen eine höhere Prävalenz von Angiosklerosen an Tag 60 p.p. als gesunde Kühe (Publikation 6). Es ist denkbar, dass die Angiosklerosen einen Einfluss auf die Involution des Gefäßbettes haben und so den physiologischen Abfall des uterinen Blutflusses bei den erkrankten Tieren behindern. Allerdings konnte Merbach (2012) keinen Zusammenhang zwischen Angiosklerosen und entzündlichen Erkrankungen des Uterus beobachten. Angiosklerosen sind sowohl bei der Kuh als auch bei der Stute eng mit Alter und Parität assoziiert; die Endometritis wird nur als ein möglicher Risikofaktor angesehen (Grüniger et al., 1998; Merbach, 2012).

Die Diagnose einer uterinen Puerperalstörung hatte einen Effekt auf die **Elimination der uterinen Inflammation** p.p. (Publikation 6). In Übereinstimmung mit einer anderen Untersuchung (Holt et al., 1989) zeigten die Tiere der Gruppe PS+ im Vergleich zu den gesunden Kühen während des Spätpuerperiums vermehrt eitrigem Vaginalausfluss. Erstaunlicherweise spiegelte sich dieser Befund nicht bei der histopathologischen Untersuchung des Endometriums wider. Es waren keine Unterschiede in der Prävalenz von Endometritiden zwischen den beiden Gruppen am Tag 42 und 58 p.p.

zu beobachten. Für diese Diskrepanz können möglicherweise die schon angesprochenen unterschiedlichen Lokalisationen der Entzündung im Genitaltrakt verantwortlich sein (Dubuc et al., 2010). Andere Autoren beschreiben ebenfalls eine mangelnde Übereinstimmung zwischen dem Auftreten von eitrigem Vaginalausfluss und zytologisch diagnostizierter Endometritis. Die Ursache für eitrigem Vaginalausfluss kann ebenso das Vorliegen einer Zervizitis bzw. einer Vaginitis sein (Dubuc et al., 2010; LeBlanc, 2014). Bei den Tieren mit Puerperalstörungen zeigte die molekularbiologische Untersuchung des Endometriums eine höhere Expression von *IL-1 α* , *IL-1 β* (58 Tage p.p.) und *TNF α* (42 und 58 Tage p.p.) als bei gesunden Tieren. Auch eine andere Studie konnte bei Tieren mit postpartalen Uteruserkrankungen eine erhöhte Expression von IL-1 beobachten, allerdings nur in der 1. Woche nach der Abkalbung (Herath et al., 2009). Über *TNF α* gibt es divergierende Angaben; bei klinischer und subklinischer Endometritis in der 4. Woche p.p. war die Expression erhöht (Fischer et al., 2010), während sie bei Tieren mit einer schweren Endometritis zwei Wochen nach der Abkalbung erniedrigt war (Chapwanya et al., 2009). Das Expressionsmuster der proinflammatorischen Zytokine bei Tieren mit uterinen Puerperalstörungen spricht für eine verzögerte Elimination der endometrialen Entzündung, die bis weit in die postpuerperale Phase hinein andauert. Der Abfall der Expression von *IL1 α* , *IL1 β* , *IL6* und *TNF α* vor allem bei den gesunden Tieren zwischen den beiden Entnahmepunkten (Tag 42 und 58 p.p.) spiegelt die andauernde Elimination der postpartalen Inflammation wider (Chapwanya et al., 2012). Diese Tatsache unterstützt die These (siehe 6.1), dass noch nach Abschluss der makroskopischen und histologischen Involution (Okano und Tomizuka, 1987; Van Camp, 1991) weitere Umbauprozesse am Uterus stattfinden.

Die **Elimination der bakteriellen Kontamination** wurde nicht von dem Auftreten einer uterinen Puerperalstörung beeinflusst (Publikation 6). Dies unterstreicht, dass die Entstehung einer puerperalen Uteruserkrankung ein multifaktorielles Geschehen und nicht ausschließlich von der Anwesenheit bakterieller Erreger abhängig ist (Sheldon et al., 2009a). Häufigkeit (26% an Tag 42 p.p. und 20% an Tag 58 p.p.) und Art der nachgewiesenen Bakterien stimmten mit den Resultaten anderer Studien überein (Bonnett et al., 1991a; Werner et al., 2012).

Zusammenfassend äußert sich der negative Einfluss von uterinen Puerperalstörungen in einer verspäteten Größenreduktion und Elimination der Inflammation. Interessanterweise wurden auch bei als gesund eingestuften Tieren nach Abschluss des Puerperiums noch weitere Veränderungen des uterinen Blutflusses und der Expression proinflammatorischer Zytokine im Endometrium beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass auch unter physiologischen Verhältnissen die uterinen Rückbildungsprozesse anscheinend nicht, wie bisher vermutet, 6 Wochen p.p. abgeschlossen sind.

Die Diagnose einer Metritis bzw. einer subklinischen Hypokalzämie hatte einen Einfluss auf die **Größenreduktion** des Uterus in den ersten vier Wochen nach der Abkalbung (Publikation 7; Tab. 1). Eine subklinische Hypokalzämie lag vor, wenn an einem der Tage 1 bis 3 p.p. ein Kalziumwert im Serum von < 2.0 mmol/l gemessen wurde. Tiere ohne subklinische Hypokalzämie zeigten an diesen Tagen immer einen Kalziumwert oberhalb von 2.0 mmol/l. In diesem Zeitraum sind die Kalziumkonzentrationen am niedrigsten mit einem Tiefpunkt am Tag 2 nach der Abkalbung (Martinez et al., 2012). Hypokalzämien entstehen durch den großen Verlust an Kalzium mit dem Kolostrum und dem Unvermögen der Kuh genug Kalzium aus den Knochen zu mobilisieren bzw. aus dem Darm zu resorbieren (Goff, 2008). Der Grenzwert von 2.0 mmol/l für Kalziumkonzentrationen im Serum wurde entsprechend der Studie von (Horst et al., 2003) gewählt. Bei der Diagnose einer subklinischen Hypokalzämie wurden die Tiere subkutan mit Kalziumkomplexen behandelt. Die Metritiden wurden lokal mit Tetrazyklinen in zwei- bis dreitägigen Abständen therapiert.

Die sonomikrometrische Untersuchung ergab, dass das Vorliegen einer subklinischen Hypokalzämie zu einer verzögerten Reduktion der Uteruslänge in der 2. und 3. Woche p. p. führte. Als Ursache hierfür wird die herabgesetzte Kontraktilität des Myometriums infolge der erniedrigten Kalziumspiegel angesehen (Aleknah und Noakes, 1989). Das Myometrium besteht aus einer äußeren longitudinalen und einer inneren zirkulären Schicht. Während der Uterusinvolution verkürzen die Kontraktionen der longitudinalen Schicht die Uteruslänge und die zirkuläre Schicht ist für die Verringerung des Uteruslumens verantwortlich (Crankshaw, 2001). Da der Uterusdurchmesser keine Unterschiede zwischen den Hypokalzämie Gruppen zeigte, scheint diese keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Kontraktilität der zirkulären Muskelschicht des Myometriums zu haben. Eine mögliche Ursache hierfür

könnte eine unterschiedliche Verteilung von Kalziumkanälen im Myometrium sein. Über die spannungsabhängigen Kanäle findet ein wesentlicher Teil des Kalziumeinstroms in die Zelle statt. Im Myometrium von graviden Ratten konnte eine unterschiedliche Expression der Kalziumkanäle in den beiden Muskelschichten nachgewiesen werden; in der longitudinalen Muskulatur waren die Kalziumkanäle vom L-Typ höher exprimiert als in der zirkulären Schicht (Ohkubo et al., 2005). Infektionen und Entzündungen des Uterus können ebenfalls in einer Atonie der Muskulatur resultieren (Frazer, 2005). Allerdings hatte die Diagnose einer Metritis keinen Einfluss auf die Reduktion der Uteruslänge. Es wird vermutet, dass die Ausprägung der Metritiden bei den Tieren der Studie nicht stark genug war, um eine erkennbare Uterusatonie zu verursachen. Dennoch lag bei den Kühen mit einer Metritis in der 3. Woche p. p. ein größerer Uterusdurchmesser vor als bei den gesunden Tieren. Neben einer herabgesetzten Kontraktilität kann auch die Ansammlung von Lochien oder entzündlichem Sekret im Uteruslumen zu einer Vergrößerung des Uterusdurchmessers führen (Mateus et al., 2002; Frazer, 2005).

Zusammenfassend kann gefolgert werden, dass beide Erkrankungen, sowohl eine Metritis als auch eine Hypokalzämie, trotz therapeutischer Maßnahmen zu einer Beeinträchtigung der Größenreduktion im klinischen Puerperium führen. Dies unterstreicht die Bedeutung der Prophylaxe dieser beiden Erkrankungen.

Tab. 1: Übersicht der physiologischen und pathologischen Einflussfaktoren auf die uterine Involution beim Rind

	Inhibition einer frühen Ovulation p.p. (Publikation 3 und 4)	Uterine Puerperalstörungen (Publikation 5, 6 und 7)	Hypokalzämie (Publikation 7)
Größenreduktion	↑	↓	↓
Uteriner Blutfluss	○	↓	○
Elimination Inflammation	↑	↓	○
Elimination bakterielle Kontamination	–	–	○

○ = nicht untersucht; – = keine Beeinflussung; ↑ = positive Beeinflussung; ↓ = negative Beeinflussung

5.4 Ausblick

Die in dieser Arbeit vorgestellten Methoden zur Erfassung der Uterusinvolution p.p. bieten eine gute Grundlage für künftige experimentelle Studien. Vor allem die Sonomikrometrie ermöglicht durch eine zuverlässige Messung der Größenreduktion nach der Abkalbung *in vivo* Studien mit folgenden Fragestellungen:

- Kommt es durch die Verabreichung von Uterotonika wie PGF_{2α} und Oxytocin zu einer Beschleunigung der uterinen Involution während des Puerperiums?
- Wie wirken sich Therapien unter Vermeidung des Einsatzes von Antibiotika bei der Behandlung von Metritiden und Endometritiden auf die uterine Involution aus?

Aufgrund des Nachweises eines positiven Einflusses einer späten Ovulation auf die uterine Rückbildung (Publikation 3 und 4) sollten die bisherigen Empfehlungen für die Praxis, die eine frühzeitige Zyklusinduktion empfehlen, kritisch überdacht werden. In diesem Zusammenhang ergeben sich weitere Fragestellungen:

- Welche Mechanismen sind für den positiven Effekt einer Zyklusinaktivität auf die uterine Involution verantwortlich? Liegt dies ausschließlich an dem Fehlen der immunsuppressiven Wirkung von P₄?
- Kann die Inhibition der Ovulation durch praxistauglichere Maßnahmen als die Follikelpunktion ersetzt werden?

Untersuchungen des uterinen Blutflusses und der endometrialen, proinflammatorischen Zytokine bei gesunden Tieren zeigen Veränderungen, die bis weit über die puerperale Phase hinaus reichen (Publikation 5 und 6). Diese bisher kaum beschriebenen uterinen Rückbildungsprozesse finden in einem Zeitraum statt, in dem nach bisheriger Auffassung die Uterusinvolution bereits abgeschlossen sein sollte. Auf Grundlage dieser Ergebnisse ist die Untersuchung folgender Fragestellungen interessant:

- Haben die physiologischen Rückbildungsprozesse, die nach Ende des Puerperiums im Gefäßbett des Uterus und auf molekularer Ebene stattfinden, einen Einfluss auf die Etablierung einer erneuten Trächtigkeit?
- Hat das anhaltend hohe BFV nach Ende des Puerperiums bei den Tieren mit uterinen Puerperalstörungen einen negativen Effekt auf die Fertilität?
- Können mit Hinblick auf die Erzielung besserer Besamungsergebnisse Referenzbereiche für das BFV oder die endometriale Expression von proinflammatorischen Zytokinen erarbeitet werden? Hier zeigt die Korrelation zwischen TNF α und den Fertilitätsparametern einen vielversprechenden Ansatz auf.

6. Zusammenfassung

Das Puerperium ist ein wichtiger Zeitraum im Reproduktionsablauf des Rindes. Eine ungestörte uterine Involution nach der Abkalbung legt den Grundstein für eine erfolgreiche Konzeption. Sie wird durch zahlreiche physiologische und pathologische Faktoren beeinflusst. Bisherige Methoden zur Erfassung der Uterusinvolution lassen vor allem eine objektive Beurteilung der Größenreduktion des Uterus vermissen. Deswegen war eine Fragestellung dieser Arbeit die Evaluierung neuer Verfahren zur Überprüfung der uterinen Rückbildung.

Mit Hilfe der Dopplersonographie der Aa. uterinae konnte eine charakteristische Abnahme des uterinen Blutflusses, insbesondere während des Frühpuerperiums, dargestellt werden. Aufgrund der guten Übereinstimmung mit der Größenreduktion des Uterus kann die Dopplersonographie als indirekte, objektive Methode zur Erfassung der uterinen Involution angesehen werden. Interessanterweise war es möglich, uterine Rückbildungsprozesse im Gefäßbett nachzuweisen, die makroskopisch und lichtmikroskopisch bisher nicht erfasst werden konnten und die weit über den puerperalen Zeitraum hinaus stattfinden.

Das Prinzip der Sonomikrometrie beruht auf der Messung der Zeit, die eine Ultraschallwelle für die Zurücklegung der Strecke zwischen zwei piezoelektrischen Kristallen benötigt. Zur Etablierung dieser Methode für die Erfassung der Größenreduktion des Uterus wurden drei Wochen a.p. per Laparotomie vier piezoelektrische Kristalle in longitudinaler Richtung in das Myometrium der großen Krümmung des graviden Uterushorns implantiert. Die Strecken zwischen den benachbarten Kristallen zeigten die größte Reduzierung mit über 50% am ersten Tag nach der Abkalbung und einen weiteren Rückgang in der zweiten Woche p.p.. Die Sonomikrometrie scheint für eine objektive Beurteilung der uterinen Größenreduktion geeignet zu sein. Bei der Anwendung sollte allerdings bedacht werden, dass nur die Reduktion der Uteruslänge erfasst werden kann und deswegen sollte idealerweise eine Kombination mit einer anderen Untersuchungstechnik erfolgen.

Eine weitere Fragestellung dieser Arbeit war die Untersuchung von physiologischen und pathologischen Einflussfaktoren auf die Uterusinvolution. Die Auswirkung des

Zeitpunktes der Ovulation p.p. auf die Fertilität wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Mit Hilfe der transvaginalen Follikelpunktion (FP) wurde experimentell die Ovulation und damit die luteale Aktivität nach der Abkalbung bei Tieren mit und ohne uterine Puerperalstörungen unterdrückt. Dies hatte einen positiven Effekt auf die Größenreduktion des Uterus, bewertet mittels transrektaler Palpation und B-Mode Sonographie. Auch die Elimination der uterinen Inflammation wurde positiv durch die FP beeinflusst, was sich klinisch in einer niedrigeren Prävalenz von eitrigem Vaginalausfluss, pathohistologisch in einer geringergradigen Ausprägung der Endometritis und bei der molekularen Untersuchung in einer verminderten Expression der proinflammatorischen Zytokine ausdrückte. Persistierende CL traten nur bei den Tieren mit Puerperalstörungen ohne Beeinflussung des Zyklus auf. Zusammengefasst führt eine anovulatorische Phase nach der Abkalbung zu einer Beschleunigung der Uterusinvolution. Für die Anwendung in der Praxis ergibt sich hieraus, dass eine frühe Induktion des Zyklus p.p. vor allem vor dem Hintergrund der Entwicklung persistierender Gelbkörper nicht empfohlen werden kann.

Uterine Puerperalstörungen, wie Metritiden und Retentio secundinarum, haben einen negativen Einfluss auf die Uterusinvolution. Mittels transrektaler Palpation und B-Mode Sonographie zeigte sich eine verzögerte Größenreduktion des Uterus bei erkrankten Tieren. Der uterine Blutfluss war bei Tieren mit Puerperalstörungen im Frühpuerperium erhöht und wies im Gegensatz zu gesunden Tieren keinen weiteren Abfall im postpuerperalen Zeitraum auf. Dies wurde mit den vermehrt auftretenden Angiosklerosen in der Gruppe der erkrankten Tiere in Zusammenhang gebracht. Die verzögerte Elimination der endometrialen Inflammation bei Kühen mit uterinen Puerperalstörungen spiegelte sich in einem erhöhten Vorkommen von eitrigem Vaginalausfluss und einer gesteigerten Expression von proinflammatorischen Zytokinen wider. Bei den gesunden Tieren traten analog zu den andauernden Rückbildungsprozessen im Gefäßbett Veränderungen bei den proinflammatorischen Zytokinen im postpuerperalen Zeitraum auf. Entgegen den bisherigen Annahmen deutet dies darauf hin, dass auch nach Ende des Puerperiums uterine Involutionvorgänge stattfinden. In einer weiteren Studie wurde mit Hilfe der Sonomikrometrie und der transrektalen B-Mode Sonographie der Einfluss von Metritiden und Hypokalzämien auf die Größenreduktion des Uterus untersucht. Während Metritiden einen negativen Einfluss

auf die Reduktion des Uterushornquerschnittes hatten, führten Hypokalzämien zu einer verzögerten Verringerung der Uterushornlänge. Es wird vermutet, dass die intrauterine Ansammlung von Lochialsekret bei Metritiden für die Vergrößerung des Hornquerschnittes verantwortlich ist. Hypokalzämien führen zu einer herabgesetzten Kontraktilität des Myometriums infolge des erniedrigten Kalziumspiegels; hier scheint vor allem die longitudinale Schicht der Muskulatur betroffen zu sein. Dass diese Auswirkungen auf die uterine Größenreduktion trotz Therapie der beiden Erkrankungen auftraten, unterstreicht die Bedeutung der Prophylaxe dieser Puerperalstörungen.

Die beiden in der vorliegenden Habilitationsschrift beschriebenen Methoden zur Beurteilung der Uterusinvolutions stellen eine Erweiterung des diagnostischen Spektrums für künftige experimentelle Studien dar. Die experimentellen Untersuchungen mit einer Inhibition der Ovulation liefern neue Erkenntnisse zu den uterinen Rückbildungs- und Reparatursprozessen während und nach dem Puerperium des Rindes unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.

7. Summary

The puerperium is the period between calving and complete uterine involution, which occurs at around 40 days postpartum and constitutes an important phase of the reproductive cycle of the cow. Normal uterine involution depends on numerous physiological and pathological factors and is critical for resumption of ovarian cyclicity and subsequent conception and pregnancy. Many facets of uterine involution have been investigated but the objective assessment of the reduction in uterine size has been elusive. Therefore, one objective of this study was to evaluate new techniques for monitoring macroscopic aspects of uterine involution in dairy cows.

Doppler sonographic examination of the uterine arteries showed a characteristic decrease in uterine perfusion, particularly in the first few days of the puerperium. There was good agreement between the decrease in perfusion and decrease in uterine size and therefore Doppler sonographic monitoring of blood flow in the uterine arteries serves as an indirect objective technique for the assessment of uterine involution. Of note, Doppler sonographic examination allowed for the documentation of a decrease in uterine blood flow beyond the normal puerperium. The decrease continued until day 65 postpartum, which has not previously been detected macroscopically or microscopically.

The sonomicrometry technique is based on the measurement of the time required by ultrasound waves to travel between two piezoelectric crystals. To test the usefulness of this technique for monitoring macroscopic uterine involution, four piezoelectric crystals were implanted into the myometrium along the greater curvature of the gravid uterine horn of seven cows three weeks before the calculated calving date. The largest daily decrease in the distance between neighbouring crystals occurred on the first day postpartum and amounted to more than 50%; another pronounced decrease occurred in the second week postpartum. This study led us to conclude that sonomicrometry is well suited for the objective assessment of macroscopic uterine involution, with the caveat that only the reduction in uterine length can be measured. Therefore, this technique should ideally be combined with another method.

Another aspect of this study was the investigation of physiological and pathological factors affecting uterine involution. There is disagreement among scientists regarding the effect of the time of the first ovulation postpartum on fertility. Using ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration, ovulation and subsequent formation of a CL were experimentally suppressed in healthy cows and in cows with puerperal disease. Follicular aspiration had a positive effect on the reduction in uterine size assessed by transrectal palpation and B-mode sonography. Likewise, the elimination of uterine inflammation was enhanced by follicular aspiration as evidenced clinically in a lower prevalence of purulent vaginal discharge, histologically in a milder expression of endometritis and molecularly in a decreased expression of pro-inflammatory cytokines. Persistent CL were limited to cows with puerperal disease that did not undergo follicular aspiration. It appears that a period of anovulation favours uterine involution. Therefore, early hormonal induction of ovulation cannot be recommended, particularly in cows with puerperal disease because of the risk of persistent CL.

Puerperal diseases such as retained fetal membranes and metritis have an adverse effect on uterine involution; affected cows have delayed reduction in uterine size as assessed by means of transrectal palpation and B-mode sonography. Uterine perfusion was increased in the early puerperium in cows with puerperal disease and did not continue to decrease in the postpuerperal period, which was in contrast to healthy cows. We assumed that this was because of angiosclerosis in the uterus of affected cows. Elimination of uterine inflammation was delayed in cows with retained fetal membranes or metritis; purulent vaginal discharge was more common and expression of pro-inflammatory cytokines in the endometrium was higher in these cows than in healthy cows. In healthy cows, changes in expression of endometrial pro-inflammatory cytokines occurred in the postpuerperal period analogous to the continuing involution of the vascular bed, which was mentioned previously. Contrary to conventional wisdom, this suggests that processes related to uterine involution extend into the postpuerperal period.

Sonomicrometry and B-mode ultrasonography were also used to investigate the effect of metritis and hypocalcaemia on uterine involution. Metritis had a negative effect on the reduction of uterine horn diameter and hypocalcaemia negatively affected reduction in uterine length. Accumulation of lochia most likely accounted for the in-

creased uterine horn diameter. Hypocalcaemia causes reduced myometrial contractility, and the longitudinal musculature seems to be affected the most. The effects of hypocalcaemia were apparent despite successful treatment of the cows with calcium, which underlies the importance of measures to prevent hypocalcaemia.

This study evaluated two methods for the assessment of uterine involution in cows: Doppler sonographic measurement of uterine perfusion as an indirect measure of involution, and sonomicrometry as a direct measure of uterine length. These techniques expand the current diagnostic spectrum and will facilitate further experiments on uterine involution. The investigation of the effects of suppression of ovulation by means of follicular aspiration expands our knowledge on uterine involution and reparative processes in healthy cows as well as in those that are ill.

8. Literaturverzeichnis

Adelson, D. W. and M. Million. 2004. Tracking the moveable feast: sonomicrometry and gastrointestinal motility. *News Physiol Sci* 19:27-32.

Ahn, A. N., R. J. Monti, and A. A. Biewener. 2003. In vivo and in vitro heterogeneity of segment length changes in the semimembranosus muscle of the toad. *J Physiol* 549(3):877-888.

Aleknah, M. M. and D. E. Noakes. 1989. A preliminary-study on the effect of induced hypocalcemia and Nifedipine on uterine activity in the parturient cow. *J Vet Pharmacol Ther* 12(2):237-239.

Azawi, O. I. 2008. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci* 105(3-4):187-208.

Bajcsy, A. C., O. Szenci, A. Doornenbal, G. C. van der Weijden, C. Csorba, L. Kocsis, I. Szucs, S. Ostgard, and M. A. Taverne. 2005. Characteristics of bovine early puerperal uterine contractility recorded under farm conditions. *Theriogenology* 64(1):99-111.

Bajcsy, A. C., O. Szenci, G. C. van der Weijden, A. Doornenbal, F. Maassen, J. Bartyik, and M. A. Taverne. 2006. The effect of a single oxytocin or carbetocin treatment on uterine contractility in early postpartum dairy cows. *Theriogenology* 65(2):400-414.

Bass, P. and J. N. Wiley. 1972. Contractile Force Transducer for Recording Muscle Activity in Unanesthetized Animals. *J Appl Physiol* 32(4):567-570.

Bekana, M., T. Ekman, and H. Kindahl. 1994. Ultrasonography of the bovine postpartum uterus with retained fetal membranes. *Zentralbl Veterinarmed A* 41(9):653-662.

Benz, P. 2010. Etablierung der Sonomikrometrie zur Beurteilung der peripartalen uterinen Kontraktilität und der uterinen Involution in den ersten Wochen nach der Geburt beim Rind. Dissertation. Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

Biewener, A. A., W. R. Corning, and B. W. Tobalske. 1998. In vivo pectoralis muscle force-length behavior during level flight in pigeons (*Columba livia*). *J Exp Biol* 201 (24):3293-3307.

Bollwein, H., U. Baumgartner, and R. Stolla. 2002. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. *Theriogenology* 57(8):2053-2061.

Bollwein, H., H. H. Meyer, J. Maierl, F. Weber, U. Baumgartner, and R. Stolla. 2000. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology* 53(8):1541-1552.

Bondurant, R. H. 1999. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J Anim Sci* 77:101-110.

Bonnett, B. N., S. W. Martin, V. P. Gannon, R. B. Miller, and W. G. Etherington. 1991a. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. *Can J Vet Res* 55(2):168-173.

Bonnett, B. N., R. B. Miller, W. G. Etherington, S. W. Martin, and W. H. Johnson. 1991b. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. *Can J Vet Res* 55(2):155-161.

Braun, U. 1997. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin.

Breeveld-Dwarkasin, V. N., P. C. Struijk, F. Eijskoot, F. K. Lotgering, F. M. van Dissel-Emiliani, G. C. van der Weyden, and M. A. Taverne. 2002. Ultrasonic cervimetry to study the dilatation of the caudal cervix of the cow at parturition. *Theriogenology* 57(8):1989-2002.

Breeveld-Dwarkasing, V. N., P. C. Struijk, F. K. Lotgering, F. Eijskoot, H. Kindahl, G. C. van der Weijden, and M. A. Taverne. 2003. Cervical dilatation related to uterine electromyographic activity and endocrinological changes during prostaglandin F(2alpha)-induced parturition in cows. *Biol Reprod* 68(2):536-542.

Britt, J. H., R. J. Kittok, and D. S. Harrison. 1974. Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early postpartum cows. *J Anim Sci* 39(5):915-919.

Burton, M. J., R. C. Herschler, H. E. Dziuk, M. L. Fahning, and R. Zemjanis. 1987. Effect of fenprostalene on postpartum myometrial activity in dairy cows with normal or delayed placental expulsion. *Br Vet J* 143(6):549-554.

Capraro, D. L., J. G. Lee, and D. C. Sharp. 1977. A technique for chronic, extraluminal measurement of uterine activity. *Am J Vet Res* 38(8):1275-1278.

Chacin, M. F. L., P. J. Hansen, and M. Drost. 1990. Effects of stage of the estrous-cycle and steroid treatment on uterine immunoglobulin content and polymorphonuclear leukocytes in cattle. *Theriogenology* 34(6):1169-1184.

Chapwanya, A., K. G. Meade, M. L. Doherty, J. J. Callanan, J. F. Mee, and C. O'Farrelly. 2009. Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology* 71(9):1396-1407.

Chapwanya, A., K. G. Meade, C. Foley, F. Narciandi, A. C. Evans, M. L. Doherty, J. J. Callanan, and C. O'Farrelly. 2012. The postpartum endometrial inflammatory response: a normal physiological event with potential implications for bovine fertility. *Reprod Fertil Dev* 24(8):1028-1039.

Chapwanya, A., K. G. Meade, F. Narciandi, P. Stanley, J. F. Mee, M. L. Doherty, J. J. Callanan, and C. O'Farrelly. 2010. Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology* 73(7):988-994.

Crankshaw, D. J. 2001. Pharmacological techniques for the in vitro study of the uterus. *J Pharmacol Toxicol Methods* 45(2):123-140.

Csapo, A. 1970. The diagnostic significance of the intrauterine pressure. I. *Obst Gynecol Surv* 25(5):403-435.

Daberitz, H., J. Wilhelm, K. Eulenberger, and A. Richter. 1984. Results of experimental studies of uterine bioelectric activity in the peripartal period and puerperium in cattle. 1. Methods of collecting, recording and assessing uterine bioelectric activity during parturition and the postpartum period in cattle. *Arch Exp Veterinarmed* 38(5):676-686.

Darwash, A. O., G. E. Lamming, and J. A. Woolliams. 1997. Estimation of genetic variation in the interval from calving to postpartum ovulation of dairy cows. *J Dairy Sci* 80(6):1227-1234.

De Kruif, A. 1999. Uteruserkrankungen. In *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*. E. Grunert und A. De Kruif, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. 191-207.

Dickey, R. P. 1997. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Hum Reprod Update* 3(5):467-503.

Dinarelo, C. A. 1994. The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J* 8(15):1314-1325.

Döcke, F. 1962. Untersuchungen zur Uteruskontraktilität beim Rind. *Arch exp Veterinärmed*, Bd. XVI:1205.

Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2010. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J Dairy Sci* 93(11):5225-5233.

Düvel, A., J. Maass, M. Heppelmann, J. Hussen, M. Koy, M. Piechotta, O. Sandra, D. G. Smith, I. M. Sheldon, I. Dieuzy-Labaye, P. Zieger, and H. J. Schuberth. 2014. Peripheral blood leukocytes of cows with subclinical endometritis show an altered cellular composition and gene expression. *Theriogenology* 81(7):906-917.

Eiler, H., J. Oden, R. Schaub, and M. Sims. 1981. Refractoriness of both uterus and mammary gland of the cow to prostaglandin F₂ alpha administration: P clinical application. *Am J Vet Res* 42(2):314-317.

Etherington, W. G., S. W. Martin, B. Bonnett, W. H. Johnson, R. B. Miller, N. C. Savage, J. S. Walton, and M. E. Montgomery. 1988. Reproductive performance of dairy cows following treatment with cloprostenol 26 and/or 40 days postpartum: a field trial. *Theriogenology* 29(3):565-575.

Fischer, C., M. Drillich, S. Odau, W. Heuwieser, R. Einspanier, and C. Gabler. 2010. Selected pro-inflammatory factor transcripts in bovine endometrial epithelial cells are regulated during the oestrous cycle and elevated in case of subclinical or clinical endometritis. *Reprod Fertil Dev* 22(5):818-829.

Fonseca, F. A., J. H. Britt, B. T. McDaniel, J. C. Wilk, and A. H. Rakes. 1983. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci* 66(5):1128-1147.

Frazer, G. S. 2005. A rational basis for therapy in the sick postpartum cow. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 21(2):523-568.

Gabler, C., M. Drillich, C. Fischer, C. Holder, W. Heuwieser, and R. Einspanier. 2009. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology* 71(6):993-1004.

Gabler, C., C. Fischer, M. Drillich, R. Einspanier, and W. Heuwieser. 2010. Time-dependent mRNA expression of selected pro-inflammatory factors in the endometrium of primiparous cows postpartum. *Reprod Biol Endocrinol* 8:152.

Galvao, K. N., N. R. Santos, J. S. Galvao, and R. O. Gilbert. 2011. Association between endometritis and endometrial cytokine expression in postpartum Holstein cows. *Theriogenology* 76(2):290-299.

Gautam, G., T. Nakao, K. Yamada, and C. Yoshida. 2010. Defining delayed resumption of ovarian activity postpartum and its impact on subsequent reproductive performance in Holstein cows. *Theriogenology* 73(2):180-189.

Ghasemi, F., P. Gonzalez-Cano, P. J. Griebel, and C. Palmer. 2012. Proinflammatory cytokine gene expression in endometrial cytobrush samples harvested from cows with and without subclinical endometritis. *Theriogenology* 78(7):1538-1547.

Giammarino, A., M. Manera, D. Robbe, M. Perugini, and M. Amorena. 2009. The effect of GnRH on in vitro bovine myometrial activity. *Anim Reprod Sci* 112(3-4):325-333.

Gier, H. T. and G. B. Marion. 1968. Uterus of cow after parturition - involutinal changes. *Am J Vet Res* 29(1):83-96.

Gillette, D. D. and L. Holm. 1963. Prepartum to postpartum uterine and abdominal contractions in cows. *Am J Physiol* 204:1115-1121.

Ginther, O. J., K. Kot, L. J. Kulick, S. Martin, and M. C. Wiltbank. 1996. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J Reprod Fertil* 108(2):271-279.

Goff, J. P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J* 176(1):50-57.

Gonzalez, H. E., W. A. Crowell, A. B. Caudle, and F. N. Thompson. 1985. Morphometric studies of the bovine uterus: microscopic lesions and retrospective reproductive history. *Am J Vet Res* 46(12):2588-2595.

Goode, T. L. and H. J. Klein. 2002. Miniaturization: an overview of biotechnologies for monitoring the physiology and pathophysiology of rodent animal models. *ILAR J* 43(3):136-146.

Griffin, J. F., P. J. Hartigan, and W. R. Nunn. 1974. Non-specific uterine infection and bovine fertility. II. Infection patterns and endometritis before and after service. *Theriogenology* 1(3):107-114.

Grunert, E. 1979. Weiblicher Geschlechtsapparat. In *Die klinische Untersuchung des Rindes*. G. Rosenberger, G. Dirksen, H.-D. Gründer, M. Stöber, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 472-548.

Grunert, E. 1993. Das normale Puerperium. In *Tiergeburtshilfe*. E. Grunert and K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 105-110.

Grüninger, B., H. A. Schoon, D. Schoon, S. Menger, and E. Klug. 1998. Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mares in relationship to age and parity. *J Comp Pathol* 119(3):293-309.

Gu, Y. J., T. L. de Kroon, J. M. Elstrodt, and G. Rakhorst. 2006. Gastrointestinal motility during cardiopulmonary bypass: a sonomicrometric study. *Artif Organs* 30(7):548-553.

Guilbault, L. A., W. W. Thatcher, D. B. Foster, and D. Caton. 1984. Relationship of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F₂ alpha concentrations in peripheral plasma with local uterine production of F series prostaglandins and changes in uterine blood flow during the early postpartum period of cattle. *Biol Reprod* 31(5):870-878.

Hanzen, C. 1981. Electrical activity of the bovine uterus prior to and post parturition. *Vet Res Commun* 5(2):143-150.

Herath, S., S. T. Lilly, N. R. Santos, R. O. Gilbert, L. Goetze, C. E. Bryant, J. O. White, J. Cronin, and I. M. Sheldon. 2009. Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 7:55.

Holt, L. C., W. D. Whittier, F. C. Gwazdauskas, W. E. Vinson, and P. S. Sponenberg. 1989. Involution, pathology and histology of the uterus in dairy cattle with retained placenta and uterine discharge following GnRH. *Anim Reprod Sci* 21(1):11-23.

Honnens, A., C. Voss, K. Herzog, H. Niemann, D. Rath, and H. Bollwein. 2008. Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. *Theriogenology* 70(7):1048-1056.

Horst, R. L., A. K. Goff, and B. J. McCluskey. 2003. Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. *J Dairy Sci* 86 (Suppl 1):247.

Huszenicza, G., M. Fodor, M. Gacs, M. Kulcsar, M. J. W. Dohmen, M. Vamos, L. Porkolab, T. Kegl, J. Bartyik, J. A. C. M. Lohuis, S. Janosi, and G. Szita. 1999. Uterine bacteriology, resumption of cyclic ovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scale dairy herds. *Reprod Dom Anim* 34(3-4):237-245.

Jaffa, A. J., I. Wolman, J. HarToov, R. Amster, and M. R. Peyser. 1996. Changes in uterine artery resistance to blood flow during puerperium - A longitudinal study. *J Matern-Fetal Inves* 6(1):27-30.

Kamimura, S., T. Ohgi, M. Takahashi, and T. Tsukamoto. 1993. Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J Vet Med Sci* 55(4):643-647.

Kawashima, C., E. Kaneko, C. Amaya Montoya, M. Matsui, N. Yamagishi, N. Matsunaga, M. Ishii, K. Kida, Y. Miyake, and A. Miyamoto. 2006. Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *J Reprod Dev* 52(4):479-486.

Killingbeck, J. and G. E. Lamming. 1963. Influence of uterine secretions on phagocytosis. *Nature* 198:111-112.

Kirkinen, P., J. Dudenhausen, H. Baumann, A. Huch, and R. Huch. 1988. Postpartum blood flow velocity waveforms of the uterine arteries. *J Reprod Med* 33(9):745-748.

Korinek, J., J. Vitek, P. P. Sengupta, A. Romero-Corral, V. K. Krishnamoorthy, E. M. McMahon, B. K. Khandheria, and M. Belohlavek. 2007. Does implantation of sonomicrometry crystals alter regional cardiac muscle function? *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 20(12):1407-1412.

Krüger, L., J. Koerte, G. Tsousis, K. Herzog, G. Flachowsky, and H. Bollwein. 2009. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first 12 weeks after parturition in healthy dairy cows. *Anim Reprod Sci* 114(1-3):23-31.

Kündig, H., R. Thun, K. Zerobin, and B. Bachmann. 1990. The uterine motility of cattle during late pregnancy, labor and puerperium. I. Spontaneous motility. *Schweiz Arch Tierheilkd* 132(2):77-84.

LeBlanc, S. J. 2014. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal Suppl* 1:54-63.

LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002a. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85(9):2223-2236.

LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002b. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85(9):2237-2249.

LeBlanc, S. J., T. Osawa, and J. Dubuc. 2011. Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 76(9):1610-1618.

Lewis, G. S. 1997. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 80(5):984-994.

Lewis, G. S. 2004. Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci* 82-83:281-294.

Manspeaker, J. E., M. A. Haaland, and J. P. Davidson. 1983. Endometrial Biopsy in Cattle Techniques and Interpretation of Findings. *JAVMA* 183(3):345-345.

Martinez, N., C. A. Risco, F. S. Lima, R. S. Bisinotto, L. F. Greco, E. S. Ribeiro, F. Maunsell, K. Galvao, and J. E. Santos. 2012. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J Dairy Sci* 95(12):7158-7172.

Mateus, L., L. L. da Costa, F. Bernardo, and J. R. Silva. 2002. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim* 37(1):31-35.

Mateus, L., L. Lopes da Costa, P. Diniz, and A. J. Ziecik. 2003. Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim Reprod Sci* 76(3-4):143-154.

Melendez, P., J. McHale, J. Bartolome, L. F. Archbald, and G. A. Donovan. 2004. Uterine involution and fertility of holstein cows subsequent to early postpartum PGF2alpha treatment for acute puerperal metritis. *J Dairy Sci* 87(10):3238-3246.

Merbach, S. 2012. Prognostische Bewertung endometrialer Veränderungen beim Rind. Vol. Dissertation. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig.

Morrow, D. A., S. J. Roberts, and K. McEntee. 1969. A review of postpartum ovarian activity and involution of the uterus and cervix in cattle. *Cornell Vet* 59(1):134-154.

Morrow, D. A., S. J. Roberts, K. McEntee, and H. G. Gray. 1966. Postpartum Ovarian Activity and Uterine Involution in Dairy Cattle. *JAVMA* 149(12):1596-1609.

Mulic-Lutvica, A., K. Eurenus, and O. Axelsson. 2009. Uterine artery Doppler ultrasound in postpartum women with retained placental tissue. *Acta Obst Gyn Scan* 88(6):724-728.

Nash, J. G., Jr., L. Ball, and J. D. Olson. 1980. Effects on reproductive performance of administration of GnRH to early postpartum dairy cows. *J Anim Sci* 50(6):1017-1021.

Ohkubo, T., T. Kawarabayashi, Y. Inoue, and K. Kitamura. 2005. Differential expression of L- and T-type calcium channels between longitudinal and circular muscles of the rat myometrium during pregnancy. *Gyn Obstet Invest* 59(2):80-85.

Okano, A. and T. Tomizuka. 1987. Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow. *Theriogenology* 27(2):369-376.

Opsomer, G., Y. T. Grohn, J. Hertl, M. Coryn, H. Deluyker, and A. de Kruif. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53(4):841-857.

Ouyang, H. and J. D. Chen. 2005. Assessment of gastric volume changes with sonometry compared with barostat. *Neurogastroenterol Motil* 17(3):447-452.

Padula, A. M. and K. L. Macmillan. 2002. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. *Anim Reprod Sci* 70(1-2):23-36.

Panarace, M., C. Garnil, M. Marfil, G. Jauregui, J. Lagioia, E. Luther, and M. Medina. 2006. Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology* 66(9):2113-2119.

Petyim, S., R. Bage, M. Forsberg, H. Rodriguez-Martinez, and B. Larsson. 2000. The effect of repeated follicular puncture on ovarian function in dairy heifers. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 47(10):627-640.

Pierson, R. A. and O. J. Ginther. 1987. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *JAVMA* 190(8):995-1001.

Rider, P., Y. Carmi, E. Voronov, and R. N. Apte. 2013. Interleukin-1alpha. *Semin Immunol* 25(6):430-438.

Riesen, J. W. 1968. Relation of postpartum interval to corpus luteum development, pituitary prolactin activity, and uterine involution in dairy cows. (effect of suckling). *University Wisconsin Research Bulletin* 270:27-41.

Risco, C. A., M. Drost, W. W. Thatcher, J. Savio, and M. J. Thatcher. 1994. Effects of calving-related disorders on prostaglandin, calcium, ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 42(1):183-203.

Rodenbusch, S. 2011. Makroskopische und histopathologische Untersuchungen am Genitaltrakt sub- und infertiler weiblicher Rinder im klinischen Kontext unter besonderer Berücksichtigung der Endometriumbiopsie. Dissertation. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Leipzig.

Sakaguchi, M. 2011. Practical aspects of the fertility of dairy cattle. *J Reprod Dev* 57(1):17-33.

Sakaguchi, M., Y. Sasamoto, T. Suzuki, Y. Takahashi, and Y. Yamada. 2004. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 87(7):2114-2121.

Salamonsen, L. A. 2003. Tissue injury and repair in the female human reproductive tract. *Reproduction* 125(3):301-311.

Savio, J. D., M. P. Boland, N. Hynes, and J. F. Roche. 1990. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil* 88(2):569-579.

Schoon, H., D. Schoon, and E. Klug. 1997. Die Endometriumbiopsie bei der Stute im klinisch-gynäkologischem Kontext. *Pferdeheilkunde* 13:453-464.

Sheldon, I. M., J. Cronin, L. Goetze, G. Donofrio, and H. J. Schuberth. 2009a. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod* 81(6):1025-1032.

Sheldon, I. M. and H. Dobson. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci* 82-83:295-306.

Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65(8):1516-1530.

Sheldon, I. M., S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, and J. E. Gadsby. 2009b. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod Domest Anim* 44 Suppl 3:1-9.

Sheldon, I. M., E. J. Williams, A. N. Miller, D. M. Nash, and S. Herath. 2008. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J* 176(1):115-121.

Silvestre, F. T., J. A. Bartolome, S. Kamimura, A. C. Arteché, S. M. Pancarci, T. Trigg, and W. W. Thatcher. 2009a. Postpartum suppression of ovarian activity with a Deslorelin implant enhanced uterine involution in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 110(1-2):79-95.

Silvestre, F. T., S. Kamimura, A. C. Arteché, J. Bartolome, S. M. Pancarci, and W. W. Thatcher. 2009b. Reproductive responses following postpartum suppression of ovarian follicular development with a deslorelin implant during summer heat stress in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 111(2-4):320-337.

Silvestre, F. T., C. A. Risco, M. Lopez, M. J. de Sa, T. R. Bilby, and W. W. Thatcher. 2009c. Use of increasing doses of a degradable Deslorelin implant to enhance uterine involution in postpartum lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 116(3-4):196-212.

Smith, M. C. and J. M. Wallace. 1998. Influence of early post partum ovulation on the re-establishment of pregnancy in multiparous and primiparous dairy cattle. *Reprod Fertil Dev* 10(2):207-216.

Sohn, C., H. Fendel, and P. Kesternich. 1988. Involution-induced changes in arterial uterine blood flow. *Z Geburtshilfe Perinatol* 192(5):203-209.

Stubbings, R. B. and J. S. Walton. 1995. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology* 43(4):705-712.

Tekay, A. and P. Jouppila. 1993. A longitudinal Doppler ultrasonographic assessment of the alterations in peripheral vascular resistance of uterine arteries and ultrasonographic findings of the involuting uterus during the puerperium. *Am J Obstet Gynecol* 168(1):190-198.

Thatcher, W. W. and C. J. Wilcox. 1973. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J Dairy Sci* 56(5):608-610.

Uemura, K., T. Kawada, K. Sunagawa, and M. Sugimachi. 2011. Peak systolic mitral annulus velocity reflects the status of ventricular-arterial coupling-theoretical and experimental analyses. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 24(5):582-591.

Van Camp, S. D. 1991. Understanding the process of placental separation and uterine involution. *Vet Med*:642-646.

Van Engelen, E., M. A. Taverne, M. E. Everts, G. C. van der Weijden, A. Doornenbal, and V. N. Breeveld-Dwarkasing. 2007a. EMG activity of the muscular and stromal layer of the cervix in relation to EMG activity of the myometrium and cervical dilatation in PGF₂α induced parturition in the cow. *Theriogenology* 67(6):1158-1167.

Van Engelen, E., M. A. Taverne, M. E. Everts, G. C. van der Weijden, A. Doornenbal, and V. N. Breeveld Dwarkasing. 2007b. Cervical diameter in relation to uterine and cervical EMG activity in early postpartum dairy cows with retained placentas after PGF₂alpha induced calving. *Theriogenology* 68(2):213-222.

Werner, A., V. Suthar, J. Plontzke, and W. Heuwieser. 2012. Relationship between bacteriological findings in the second and fourth weeks postpartum and uterine infection in dairy cows considering bacteriological results. *J Dairy Sci* 95(12):7105-7114.

Zain, A. E. D., T. Nakao, M. A. Raouf, M. Moriyoshi, K. Kawata, and Y. Moritsu. 1995. Factors in the Resumption of Ovarian Activity and Uterine Involution in Postpartum Dairy-Cows. *Anim Reprod Sci* 38(3):203-214.

Zaremba, W. 1990. Postpartale Stadien beim Rind. In *Tiergeburtshilfe*. E. Grunert and K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 107.

9. Darstellung des eigenen Anteils an der wissenschaftlichen Arbeit

Publikation 1:

Heppelmann, M., Krüger, L., Leidl, S., Bollwein, H. (2013). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in cows. *Journal of Veterinary Science* 14, 323-327

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Leidl
2. Versuchsdurchführung: Leidl, Bollwein
3. Auswertung der Ergebnisse: Leidl, Heppelmann, Bollwein, Krüger
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Krüger
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 2:

Heppelmann, M., Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). *Technical note*: The use of a sonomicrometry system for monitoring uterine involution in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98, 1862–1869

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Krüger, Benz, Heppelmann
2. Versuchsdurchführung: Krach, Heppelmann, Herzog, Krüger, Benz
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Krach, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Piechotta, Hoedemaker
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 3:

Heppelmann, M., Brömmling, A., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Bollwein, H. (2013). Effect of postpartum suppression of ovulation on uterine involution in dairy cows. *Theriogenology* 80, 519-525

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Clinic for Obstetrics, Gynecology and Andrology of Large and Small Animals, Justus-Liebig University Giessen, Frankfurter Strasse 106, 35392 Giessen, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Heppelmann
2. Versuchsdurchführung: Brömmling, Weinert, Heppelmann, Wrenzycki
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Brömmling, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Piechotta, Wrenzycki
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 4:

Heppelmann, M., Brömmling, A., Ulbrich S. E., Weinert, M., Piechotta, M., Wrenzycki, C., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). Effect of postpartum suppression of ovulation on endometrial inflammation in dairy cows. *Theriogenology* 84, 155-162

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Physiology Weihenstephan, Technical University Weihenstephan, Freising, Germany

Clinic for Obstetrics, Gynecology and Andrology of Large and Small Animals, Justus-Liebig University Giessen, Frankfurter Strasse 106, 35392 Giessen, Germany

Institute of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, An den Tierkliniken 33, 04103 Leipzig, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Heppelmann
2. Versuchsdurchführung: Brömmling, Weinert, Heppelmann, Wrenzycki, Ulbrich, Merbach
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Brömmling, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Ulbrich, Piechotta, Wrenzycki, Hoedemaker, Merbach, Schoon

5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 5:

Heppelmann, M., Weinert, M., Brömmling, A., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2013). The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography of the uterine arteries. *Animal Reproduction Science* 143, 1-7

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Heppelmann
2. Versuchsdurchführung: Weinert, Brömmling, Heppelmann
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Weinert, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Piechotta, Hoedemaker
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 6:

Heppelmann, M., Weinert, M., Ulbrich S. E., Brömmling, A., Piechotta, M., Merbach, S., Schoon, H.-A., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). The effect of puerperal uterine disease on histopathological findings and gene expression of pro-inflammatory cytokines of the endometrium in dairy cows. *Theriogenolog* 85, 1348-1356

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Physiology Weihenstephan, Technical University Weihenstephan, Freising, Germany

Institute of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, An den Tierkliniken 33, 04103 Leipzig, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Heppelmann
2. Versuchsdurchführung: Brömmling, Weinert, Heppelmann, Ulbrich, Merbach
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Brömmling, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Ulbrich, Piechotta, Hoedemaker, Merbach, Schoon
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Publikation 7:

Heppelmann, M., Krach, K., Krüger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H. (2015). The effect of metritis and subclinical hypocalcaemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry. *Journal of Reproduction and Development* 18, 565-569

Folgende Institutionen waren in Kooperation beteiligt:

Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

Clinic for Reproduction, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 204, CH-8057 Zürich, Switzerland

1. Idee und Versuchsplanung: Bollwein, Heppelmann, Krüger, Benz,
2. Versuchsdurchführung: Krach, Heppelmann, Herzog, Krüger, Benz
3. Auswertung der Ergebnisse: Heppelmann, Krach, Bollwein
4. Erstellung des Manuskriptes: Heppelmann, Bollwein, Piechotta, Hoedemaker
5. Korrespondierender Autor: Heppelmann

Danksagung

Mein allergrößter Dank gilt Herrn Prof. Dr. Heinrich Bollwein für die Möglichkeit der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit, für die wertvollen Ratschläge und Tipps und das in mich gesetzte Vertrauen.

Ein besonderes Dankeschön geht an die von mir mitbetreuten Doktorandinnen -Anne Brömmling, Merle Weinert, Karoline Krach, Julia Volland und Lara Gorriz Martin- für den unermüdlichen praktischen Einsatz, für die Arbeit bei der Auswertung und Niederschrift und für die gute Zusammenarbeit.

Ich danke Frau Prof. Dr. Hoedemaker für die Unterstützung bei der Anfertigung der Manuskripte.

Vielen Dank an Dr. Sabine Merbach und Prof. Dr. Heinz-Adolf Schoon vom Institut für Veterinär-Pathologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig für die histopathologische Beurteilung und Auswertung der Endometriumbiopsate sowie für die Korrektur der Manuskripte.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Ana Hanstedt und Prof. Dr. Christine Wrenzycki für die kompetente Einarbeitung in die Technik der Follikelpunktion und für die Überarbeitung der Veröffentlichungen bedanken.

Ein herzliches Dankeschön geht an JProf. Dr. Marion Piechotta für die Zusammenarbeit im Rahmen des „Pfizer“-Projektes und die Durchsicht der Manuskripte.

Ein weiterer Dank gebührt Prof. Dr. Susanne Ulbrich von der ETH Zürich für die Durchführung der Expressionsanalysen und für die Überarbeitung der Veröffentlichungen.

Ich danke Herrn Dr. Ruedi Waelchli für die englische Übersetzung und Korrektur der Manuskripte.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des endokrinologischen und klinischen Labors der Klinik für Rinder für die Bestimmung der Proben.

Ein Dank geht an alle ehemaligen und aktuellen Mitarbeiter der Klinik für Rinder, die mich bei der Durchführung der Arbeit unterstützt haben. Insbesondere danke ich hier den Tierpflegern für die Betreuung der Tiere.

Dank gebührt Dr. Christian Sürle und seinen Mitarbeitern vom Lehr- und Forschungsgut Ruthe für die Bereitstellung der Tiere und die Hilfestellung.

Ich möchte mich bei zoetis, der H. Wilhelm Schaumann Stiftung und dem Förderverein Bioökonomieforschung e. V. für die finanzielle Unterstützung bedanken.

Vielen Dank an Dr. Lars Krüger und Dr. Philipp Benz für die Einarbeitung und Einweisung in die Technik der Sonomikrometrie.

Ein besonderes Dankeschön geht an Dr. Kathrin Herzog für die Hilfe und Anleitung bei den Operationen und die gemeinsamen Hundespaziergänge.

Mein spezieller Dank geht an Prof. Dr. Alexander Starke für die immerwährende Motivation und Unterstützung

Ich danke Christiane ganz herzlich für das Korrekturlesen der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank geht an meine Familie, hier insbesondere an meine Eltern, die mich in allem unterstützt und immer an mich geglaubt haben. Ein Dankeschön an alle meine Freunde, die „Habilidingsbums“ ist nun endlich fertig geschrieben. Danke an Lars für dein Verständnis und deine Geduld.