

Aus der
Tierklinik für Fortpflanzung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Einfluß der negativen Energiebilanz bei Hochleistungskühen im
Puerperium auf die Sensibilität der Hypophyse für GnRH
und auf die Veränderung unterschiedlicher indirekter
Stoffwechselfparameter**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
JOSEF BERGMANN
Tierarzt aus Offenbach
Berlin 1998
Journal Nr. 2230

gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Hartung

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heuwieser

Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Elze

Tag der Promotion: 18.12.98

Was Du getan hast und nicht bis zum Ende getan hast,
geht zurück, am Zügel der Zeit,
im Krebsgang

(Heiner Müller)

Für

1395

1408 1433

1464 2182 2196

3115 1452 1466 1475

1503 2154 3118 1449 1460

2037 2071 2115 2165 2167 2208

3035 3086 1412 1425 2240 3131 3137 3108 3123

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	8
2. Literaturübersicht	9
2.1. Endokrine Steuerungsmechanismen	9
2.1.1. Chemische Struktur und Syntheseorte von Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)	9
2.1.2. Freisetzungsreize, Modulatoren und Erfolgsorgane von GnRH	11
2.1.2.1. Freisetzungsreize	11
2.1.2.2. Erfolgsorgane	11
2.1.2.3. Modulatoren	12
2.1.3. Struktur und Wirkung von LH, isomere Formen	19
2.1.4. Rückkopplungsmechanismen von Ovar und Uterus auf Hypophyse und Hypothalamus	20
2.1.5. Sekretionsmuster von GnRH, LH/FSH Östradiol-17 β und Progesteron in der Hochlaktation	22
2.1.6. Therapeutischer Einsatz von GnRH zur Zyklusinduktion	25
2.2. Energiebilanz post partum	26
2.2.1. Laktationsverlauf und Futteraufnahmekapazität	26
2.2.2. Verlauf und Ausmaß der negativen Energiebilanz	28
2.2.3. Veränderung der Milchinhaltsstoffe durch Energiemangel und Veränderung der Körperkondition durch die negative Energiebilanz	29
2.2.4. Einfluß der Energiebilanz auf die Fruchtbarkeit	33
3. Material und Methoden	36
3.1. Material	36
3.1.1. GnRH	36
3.1.2. Tiere und Gruppengestaltung	37
3.1.3. Fütterung	40
3.1.4. Probenentnahme Milch und Blut	41
3.1.4.1. Milch	41

3.1.4.2.	Blut	41
3.2.	Methoden	42
3.2.1.	LH-Nachweismethode	42
3.2.1.1.	Vorbereitung der Mikrotiterplatten	42
3.2.1.2.	Testablauf	42
3.2.2.	Östradiolnachweis	44
3.2.3.	Progesteronnachweis	44
3.2.3.1 .	Progesteronnachweis Milch	44
3.2.3.2 .	Progesteronnachweis Plasma	45
3.2.4.	Milchanalysen	45
3.2.5.	Methodik der Körperkonditionsbewertung, Messung der Rückenfettdicke und Gewichtsbestimmung	46
3.2.5.1.	Körperkonditionsbewertung	46
3.2.5.2.	Messung der Rückenfettdicke	47
3.2.5.3.	Gewichtsbestimmung	47
3.2.6.	Statistische Methoden	47
4.	Ergebnisse	49
4.1.	Entwicklung der Stoffwechselfparameter	49
4.1.1.	Entwicklung des Körpergewichtes	49
4.1.2.	Verlauf der Milchleistungskurve	50
4.1.3.	Entwicklung der Futtermittelaufnahme	51
4.1.4.	Entwicklung der Energiebilanz	53
4.2.	LH Reaktion der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Energiebilanz	55
4.2.1	LH Reaktion der Gruppe 1	55
4.2.2	LH Reaktion der Gruppe 2	57
4.2.3	LH Reaktion der Gruppe 3	59
4.2.4.	LH Reaktion der Kontrollgruppe	61
4.3.	Nettoenergiebilanz und indirekte Parameter	64
4.3.1.	Nettoenergiebilanz und BCS-Werte	64
4.3.2.	Nettoenergiebilanz und Rückenfettdicke	66
4.3.3	Nettoenergiebilanz und Phosphoenolpyruvat in der Milch	68

4.3.4.	Nettoenergiebilanz und Betahydroxybutyrat in der Milch	70
4.3.5.	Nettoenergiebilanz und Acetoacetat in der Milch	72
4.3.6.	Nettonergiebilanz und Verlauf der LM Entwicklung	74
5.	Diskussion	77
5.1.	Entwicklung der Stoffwechselfparameter	77
5.1.1.	Entwicklung des Körpergewichtes	77
5.1.2.	Entwicklung der Milchleistungskurve	78
5.1.3.	Entwicklung der Trockensubstanzaufnahme	78
5.1.4.	Verlauf der Energiebilanz in den einzelnen Gruppen	78
5.2.	LH Reaktion der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Energiebilanz	80
5.2.1 .	LH Reaktion in Gruppe 1	80
5.2.2 .	LH Reaktion in Gruppe 2	81
5.2.3 .	LH Reaktion in Gruppe 3	81
5.2.4 .	LH Reaktion in der Kontrollgruppe	81
5.3.	Nettoenergiebilanz und indirekte Parameter	82
5.3.1.	Nettoenergiebilanz und BCS-Werte	82
5.3.2.	Nettoenergiebilanz und Rückenfettdicke	83
5.3.3.	Nettoenergiebilanz und Phosphoenolpyruvat in der Milch	83
5.3.4.	Nettoenergiebilanz und Betahydroxybutyrat in der Milch	84
5.3.5.	Nettoenergiebilanz und Acetoacetat in der Milch	84
5.3.6.	Nettoenergiebilanz und Verlauf der LM Entwicklung	85
6.	Zusammenfassung	86
7.	Summary	88
8.	Literaturverzeichnis	90

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

AA	Acetoacetat
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
BHB	β -Hydroxybutyrat
EB	Energiebilanz
EGF	Epidermal growth factor
EOP	Endogene opioid peptide
FCM	Fett korrigierte Milch
FGF	Fibroblast growth factor
GAP	GnRH assoziiertes Peptid
GnRH	Gonadotropin releasing hormone
GnSAF	Gonadotrophin-surge attenuating factor
IGF1	Insulin-like growth factor 1
LH	Luteinisierendes Hormon
LHRH	Luteinizing hormone releasing hormone
LM	Lebendmasse
NEB	Negative Energiebilanz
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NPY	Neuropeptid Y
OVX	ovarietomiert
PEP	Phosphoenolpyruvat
p.p.	post partum
RFD	Rückenfettdicke
SD	Standardabweichung
TGF	Transforming factor
TSA	Trockensubstanzaufnahme

1. Einleitung

Etwa 30 % der Kühe, die aus dem Milchproduktionsprozeß ausscheiden, weisen infauste Fertilitätsstörungen auf. Fruchtbarkeitsprobleme zählen somit zu den wichtigsten Problemen hochleistender Milchviehherden.

Kühe sind ganzjährig polyöstrisch. Der Brunstzyklus der Kühe dauert durchschnittlich etwa 21 Tage. Die Follikelphase des Brunstzyklus dauert etwa 2 bis 3 Tage (Clarke 1989). Die Regulation der Fortpflanzung unterliegt komplexen Mechanismen. Sie dienen dem Ziel, den Zeitpunkt der Reproduktion optimal zu terminieren. Die Notwendigkeit hierfür liegt bei wildlebenden Tieren unter anderem in den jahreszeitlichen Schwankungen des Futterangebotes. Nach Domestikation und Züchtung wird die Laktation als bedeutender limitierender Faktor der Fortpflanzung bei Hochleistungskühen angesehen. Trotz optimierter Fütterung ist es nicht möglich, den Energiebedarf einer Milchkuh in der Hochlaktation zu decken (Bauman und Currie 1980, Baldwin et al. 1985, Moe und Tyrell 1986, Braun et al. 1986, Berghorn et al. 1987, Butler und Smith 1989, Staufenbiel 1990, Bauer 1990, Kolb und Elze 1995). Die Kapazität der Trockensubstanzaufnahme steigt langsamer als die Milchproduktion. Die Folge ist eine negative Energiebilanz.

Es wird von den meisten Autoren angenommen, daß die negative Energiebilanz (NEB) die Ursache vieler Fertilitätsstörungen ist. Die genauen Mechanismen dieser Einflußnahme der NEB auf die Reproduktion sind allerdings noch nicht eindeutig geklärt.

Die Ziele der vorliegenden Untersuchung waren folgende:

1. Den Verlauf und das Ausmaß der NEB bei den Versuchstieren zu verfolgen,
2. die Sensibilität der Hypophyse für exogen verabreichtes Gonadotropin releasing hormone (GnRH) in Abhängigkeit von der NEB zu quantifizieren und
3. verschiedene indirekte Methoden zur Erfassung der Energiebilanz zu vergleichen.

2. Literaturübersicht

2.1. Endokrine Steuerungsmechanismen

2.1.1. Chemische Struktur und Syntheseorte von GnRH

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) oder Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) ist ein Peptidhormon aus dem Hypothalamus mit zehn Aminosäuren, dessen Existenz und Wirkung erstmals 1960 beschrieben wurde (McCann et al. 1960). Seine Aminosäuresequenz wurde 1971 publiziert (Schally et al. 1971, Gurgus et al. 1972). Es besitzt beim Rind folgende Primärstruktur:

p Glu - His - Trp - Ser - Tyr - Gly - Leu - Arg - Pro - Gly - NH₂

Diese Form von GnRH ist spezifisch für Säugetiere. Unter den Wirbeltieren sind insgesamt acht (White et al. 1994) verschiedene GnRH Strukturen bekannt. Es existieren eigene GnRH Formen bei Huhn und Lachs (Millar und King 1987, Peter et al. 1987).

Die Biosynthese von GnRH erfolgt vorwiegend in Neuronen des rostralen und mediobasalen Hypothalamus (Leshin et al. 1988, Silverman 1988). Andere GnRH sezernierende Fasern ziehen in diverse Gehirnareale, vor allem des Organum vasculosum lamina terminalis und die Eminentia medialis (Wray und Hoffmann 1986). Es sind speziesabhängig nur einige hundert bis einige tausend Neurone, die GnRH exprimieren. Nicht alle GnRH bildenden Neurone stehen in direktem Kontakt zum Portalvenengeflecht der Eminentia medialis und damit zur Adenohypophyse (Silverman et al. 1990). Hierbei zeigte sich, daß GnRH exprimierende Neurone erstmals embryonal im olfaktorischen Epithel nachgewiesen werden können und sich im Laufe der Ontogenese entlang der vomeronasalen Nerven beziehungsweise der Nervi terminales zu den Stellen ausdehnen, an denen sie bei adulten Tieren gefunden werden (Wray et al. 1989, Bond und Adelman 1993). Auf den sich hier andeutenden Zusammenhang zwischen GnRH und Olfaktion wird später näher eingegangen.

Morphologisch können die GnRH bildenden Neurone in zwei Typen unterschieden werden. Meist bipolare Neurone mit „glatten“ Fortsätzen (smooth) und multipolare Neurone mit „stacheligen“ Fortsätzen (spiny). Die Gesamtzahl der GnRH bildenden Neurone bleibt zwar im Leben eines Individuums gleich, allerdings ist eine massive Konversion von glatten

Nervenzellen zu stacheligen Zellen zum Zeitpunkt der Pubertät zu beobachten (Wray und Hoffmann 1986). Ein einzelnes Gen kodiert bei Säugetieren die Synthese eines Prohormones mit 69 Aminosäuren, das weiter zu GnRH und dem GnRH assoziierten Peptid (GAP) dissoziiert (Nikolics et al. 1988). Aus der Tatsache, daß GAP auch im Kolostrum von Rindern nachweisbar ist (Zhang et al. 1990), wurde geschlossen, daß GnRH wahrscheinlich auch lokal im Eutergewebe synthetisiert wird (Döcke 1994).

Weiterhin ist GnRH im Gewebe der Hoden und der Ovarien, in der Placenta und in der Muttermilch verschiedener Spezies nachgewiesen (Bond und Adelman 1993). Der Nachweis von GnRH in Lymphozyten des Thymus und der Milz gelang 1991 (Azad et al. 1991). Die Menge an GnRH steigt im Laufe der Entwicklung stetig bis zum Erreichen der sexuellen Reife an. Absinkende Werte sind während der postnatalen Still- beziehungsweise Säugeperiode (Jakubowski 1991) zu beobachten.

2.1.2. Freisetzungsreize, Erfolgsorgane und Modulatoren von GnRH

2.1.2.1. Freisetzungsreize

Quantitative Analysen der Konzentration an Luteinisierendem Hormon (LH) im Blut von Affen führten zu der Hypothese, daß die GnRH Sekretion pulsatil erfolgt (Dierschke et al. 1970). Diese wurde durch den direkten Nachweis von GnRH aus dem hypophysären Portalvenenblut (Clarke und Cummins 1982) und im Liquor cerebrospinalis des dritten Gehirnentrikels (Skinner et al. 1995) bestätigt. Die Frequenz der GnRH Pulsation schwankt zwischen einem Puls in vier Stunden (Lutealphase) und einem Puls in 45 Minuten (Beginn der Follikelphase). Beim Übergang von der Lutealphase zur Follikelphase steigt die Pulsfrequenz bei fallender Pulsamplitude (Clarke 1988). Das streng episodische Pulsationsmuster wird möglicherweise dann von massiven, anhaltenden GnRH Freisetzungen von konstanter Menge abgelöst (Karsch et al. 1992).

Ursache dieser Pulsation könnte ein GnRH Pulsgenerator im Nucleus infundibularis des mediobasalen Hypothalamus sein, der vor allem beim Rhesusaffen angenommen wurde (Knobil 1980).

Die genaue Natur und anatomische Lokation eines solchen Generators wird von anderen Untersuchern als ungeklärt bezeichnet. Ob die beobachtete Pulsatilität durch eine intrinsische Aktivität oder durch synaptischen Input anderer Hirnareale bewirkt wird, ist ebenso nicht eindeutig geklärt (Bond und Adelman 1993).

2.1.2.2. Erfolgsorgane

Primäres Erfolgsorgan von GnRH ist zweifelsfrei die Hypophyse (Knobil 1980). Hier wurden Rezeptoren für GnRH nachgewiesen (Marian und Conn 1983). Eine GnRH Sekretion führt über die neurovaskuläre Verbindung des Portalvenengeflechtes zwischen Hypothalamus und Adenohypophyse zu einer Sekretion von LH. Zwar ist ein LH Puls immer mit einem etwa zeitgleichen GnRH Puls zu beobachten, es treten aber auch GnRH Sekretionen ohne koinzidente LH Ausschüttungen auf (Clarke und Cummins 1982). Unsicher ist die Interpretation der Befunde über das Vorkommen von GnRH im Liquor cerebrospinalis. Möglicherweise beeinflusst GnRH über dieses Medium Hirnareale, die brunstbedingte

Verhaltensänderungen steuern. Dies würde auch erklären, daß nicht jeder GnRH Puls von einer LH Ausschüttung in der Hypophyse begleitet ist (Skinner 1995).

2.1.2.3. Modulatoren

Prinzipiell kann die GnRH Modulation auf drei Ebenen erfolgen:

Nimmt der Hypothalamus selbst Einfluß auf seine eigene Sekretionsaktivität, spricht man von ultrakurzem Feedback. Handelt es sich um Rückwirkungen von LH und FSH aus der Hypophyse, beschreibt man diese Einflußnahme als kurzen Feedback und bei Modulationen, deren Ursache in der Peripherie zu finden sind, spricht man von Feedback Mechanismen (Döcke 1994). Bei Schafen und Rhesusaffen, deren neurovaskuläre Verbindung zwischen Hypothalamus und Hypophyse durchtrennt wurde, konnte folgende Beobachtung gemacht werden: Bei exogener GnRH Gabe von gleicher Menge aber steigender Frequenz kommt es zu einer Amplitudensenkung der LH Sekretion (Wildt et al. 1981, Clarke et al. 1984). Diese Erkenntnis intensiviert die Arbeiten über die Besonderheiten der GnRH Wirkung.

Erste erhellende Befunde wurden durch den Nachweis spezifischer GnRH Rezeptoren erbracht. Es handelt sich um Glykoproteine, die ausschließlich in der Plasmamembranfraktion der Adenohypophyse gefunden wurden (Hazum 1982, Schwartz und Hazum 1985, Marian und Conn 1983). Die Menge der Rezeptoren ist zyklusabhängig. Mit Beginn der Follikelphase steigt ihre Anzahl (Brooks et al. 1993). Maximalwerte werden im Proöstrus, kurz vor dem präovulatorischen LH Peak gemessen (Nett et al. 1987). Während der Laktation und der Gravidität nimmt die Menge der Rezeptoren ab (Clayton et al. 1980, Marian et al. 1981). Die Zahl der Rezeptoren steigt post partum bis zum 15. Tag wieder an (Nett et al. 1988).

Gleichzeitig wurde beobachtet, daß die Rezeptorbindungskapazität ab der frühen Follikelphase im Vergleich zur Lutealphase verdoppelt ist (Brooks et al. 1993).

Im Zusammenhang mit der Rezeptoranzahl und -funktion von GnRH wurde die Einführung verschiedener, systematisierender Begriffe notwendig.

„down regulation“ der Rezeptoren: Eine von GnRH selbst induzierte Verringerung der (Rezeptorreduktion) Rezeptorzahl 3-4 Stunden nach GnRH Behandlung.

„up regulation“ der Rezeptoren: Eine einige Stunden nach down regulation einsetzende (Rezeptorproliferation) Erhöhung der Rezeptorzahl.

Die diesen beiden Phänomenen zugrundeliegenden Mechanismen sind prinzipiell unterschiedlich und nicht einfache Umkehrungen.

Desensitivierung: Beschreibt die Beobachtung, daß die Zellen der Adenohypophyse nach GnRH Applikation partiell refraktär werden können. Diese Beobachtung kann nicht durch Rezeptorblockade erklärt werden, da temporäre Rezeptorblocker keine Desensitivierung nach sich ziehen (Braden und Conn 1990, Döcke 1994).

Die von GnRH stimulierte LH Sekretion ist direkt proportional zum extrazellulären Calciumgehalt. GnRH selbst hat einen inhibitorischen Effekt auf seine eigene Sekretion (Braden und Conn 1990, Naylor et al. 1989).

Progesteron

Im hypophysären Portalblut von Schafen sind während der Luteal-Phase deutlich geringere GnRH Pulsfrequenzen gemessen worden als in der Follikelphase (Clarke 1995).

Bestätigt wird dies durch die Beobachtung, daß bei ovariectomierten Tieren eine Applikation von Progesteron die GnRH Pulsfrequenz deutlich senkt (Karsch et al. 1987, Clarke 1988).

Auch die Amplitude der GnRH Pulsfrequenz sinkt in der Luteal-Phase ab (Clarke et al. 1987).

Erst der Abfall des Progesteronspiegels ermöglicht einen Anstieg der GnRH Pulsfrequenz (Barrel et al. 1992, Kasa-Vubu et al. 1992).

Östradiol

Östradiol senkt in Anwesenheit von Progesteron die GnRH Sekretion (Karsch et al. 1987,

Martin et al. 1983). Die Wirkung von Östradiol ist außerdem mengenabhängig. Werden

ovariectomierte Schafe auf einem Plasmaöstradiolwert von 3 pg/ml gehalten, sinkt die GnRH Sekretion und reduziert sich die hypophysäre Sensibilität für GnRH (Karsch et al. 1987,

Goodman und Karsch 1980, Clarke 1988). Größere Mengen von Östradiol steigern die GnRH Pulsation in Frequenz und Amplitude (Caraty et al. 1995). Im Verlauf der Follikelphase steigt die GnRH Pulsfrequenz stetig an (Moenter et al. 1991). Das neuroendokrine Signal für den präovulatorischen Anstieg von LH ist möglicherweise allein das Ansteigen des Östradiolspiegels im Verlauf der Follikelphase.

6 bis 8 Stunden vor dem LH Peak ist die LH Amplitude erniedrigt (Walters et al. 1984, Schallenberger et al. 1985). Für die Genese des präovulatorischen LH Peaks werden zwei Erklärungen diskutiert:

- | | |
|---------------------------|---|
| Deterministisches Modell: | Der Anstieg der GnRH Sekretion im Hypothalamus durch erhöhten Östradiolspiegel bestimmt die LH Sekretion (Caraty et al. 1995). |
| Permissives Modell: | Der Anstieg der Sensibilität der Hypophyse für GnRH bestimmt wesentlich die präovulatorische LH Sekretion, die sogenannte „released clamp“ Theorie (Clarke 1995). |

Östradiolrezeptoren konnten allerdings an GnRH Neuronen mit immunocytochemischen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden (Bond und Adelman 1993, Lehman und Karsch 1993).

Bemerkenswerterweise finden sich aber in der Area praeoptica sehr wohl Östradiolrezeptoren (Herbison et al. 1993, Lehman et al. 1993, Blache et al. 1994). Östradiolimplantate forcierten die GnRH Pulsation nur, wenn sie im Nucleus ventromedialis des Hypothalamus implantiert worden waren (Blache et al. 1991, Caraty et al. 1995). Es wurden Modelle diskutiert, in denen die Östradiolwirkung durch steroidsensible Neuronsysteme katalysiert werden soll (Bond et al. 1991, Herbison et al. 1993).

Karsch et al. (1992) postulieren, daß ansteigendes Östradiol in der Follikelphase den GnRH Freisetzungsmodus prinzipiell verändert. Die episodische Freisetzung wird durch eine dauerhafte Freisetzung abgelöst. Erklärt werden könnte dieses Phänomen durch Desynchronisation der GnRH Neurone oder durch Rekrutierung asynchron sezernierender Neurone (Karsch et al. 1992, Evans et al. 1995).

Clarke (1988) kategorisiert die Wirkung gonadaler Steroidhormone auf Hypothalamus und Hypophyse nach folgendem Schema:

Kurzzeit negatives Feedback:	Wirkungseintritt auf Hypothalamus und/oder Hypophyse Minuten/Stunden nach Östradiol Applikation bei ovariektomierten Tieren. Dieser Effekt ist nur durch hypophysäre Mechanismen erklärbar (Clarke und Cummins 1984). Keine GnRH Reduktion ist messbar (Clarke und Cummins 1985).
Langzeit negatives Feedback:	Modifizierung des GnRH Sekretionsmusters Wochen nach der Applikation von Östradiol. Hierunter fallen auch die physiologischen Wirkungen im Zyklus und während des Anöstrus (Karsch et al. 1987).
Positives Feedback:	Gleichzeitiges Auftreten niedriger Progesteronspiegel und Östradiol Applikation bewirkt eine unmittelbare Erhöhung der GnRH Pulsfrequenz (Clarke und Cummins 1985).

N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)

Unter den exzitatorischen Aminosäuren ist von NMDA bekannt, daß es bei der Ratte die Sekretion von GnRH direkt stimuliert (Brann und Mahesh 1991). NMDA benötigt zur Wirkungsentfaltung Glycin (Bourguignon et al. 1989). Eine Beeinflussung der präpubertären, pulsatilen GnRH Sekretion liegt bei Bullenkälbern vermittelt durch NMDA-Rezeptoren vor (Shahab et al. 1995).

Endogene Opioid Peptide (EOP)

Von EOP (Methionin-Enkephalin, β -Endorphin, Dynorphin) wurde schon früh vermutet, daß sie die GnRH Sekretion senken könnten (Ferin 1987, Orstead und Spies 1987, Thind und Goldsmith 1988). Bei postpartalen Kühen steigert die Behandlung mit dem Morphinantagonisten Naloxon die LH Sekretion (Gregg et al. 1986). Bemerkenswert ist der Bericht von Whisnant (1986), nach dem am 14. Tag post partum eine höhere Dosis Naloxon nötig ist, um die LH Sekretion zu steigern als am 28. beziehungsweise am 42. Tag post partum. Unter der Voraussetzung einer gleichbleibender Rezeptoranzahl würden diese Ergebnisse darauf hindeuten, daß der EOP-Spiegel im Verlauf des Puerperiums abnehmen würde und EOP damit möglicherweise eine wesentliche Rolle beim Wiedereinsetzen des Zyklus zukommt. Vor diesem Hintergrund fügen sich die Ergebnisse von Schmid et al. (1989)

zur Reaktion stillbrünstiger Tiere auf Applikation von Opioidantagonisten passend ein: Das Brunstverhalten dieser Kühe als Folge potentiell-insuffizienter GnRH Sekretion war nach Behandlung mit EOP-Antagonisten signifikant deutlicher ausgeprägt als in der Kontrollgruppe (Schmid et al. 1989). Fütterungsversuche zeigten, daß Tiere mit hoher Energieversorgung ebenfalls auf die Verabreichung einer definierten Menge Naloxon reagierten. Bei Tieren mit niedriger Energieversorgung reichte diese Menge für eine positive Beeinflussung der LH Sekretion nicht aus (Holloway et al. 1987). Der direkte Einfluß von EOP auf den Hypothalamus und die GnRH Sekretion konnte bewiesen werden (Leshin et al. 1989).

Insulin

Als mögliches Verbindungsglied zwischen Ernährungsstatus und Reproduktion wird von einigen Autoren Insulin genannt (Butler und Smith 1989, Jolly 1995, Kolb und Elze 1995). Die Insulin Sekretion als eine der beiden Regelstellen des Kohlenhydratstoffwechsels, ist bei Kühen im Puerperium erniedrigt. Untersuchungen bei Ratten haben gezeigt, daß die Wirkungen von Insulin und dem unten näher erläuterten Neuropeptid Y (NPY) in engem Zusammenhang stehen: Hypoinsulinämie durch restriktive Fütterung ist begleitet von sich steigernden NPY Spiegeln im Hypothalamus und gefolgt von erhöhter Futteraufnahme (Malabu et al. 1994). Webb (1994) weist darauf hin, daß Insulin die Wirksamkeit von FSH und LH steigert.

Neuropeptid Y (NPY)

NPY ist ein tyrosinreiches Neuropeptidhormon mit 36 Aminosäuren. Es hat hemmenden Einfluß auf das Sexualverhalten und forciert die Futteraufnahme (Clark et al. 1985). Einige Autoren halten NPY für die entscheidende Struktur zum Verständnis zwischen Ernährung und Reproduktion. Beim Schaf konnte nachgewiesen werden, daß restriktive Fütterung, verminderte LH Spiegel und erhöhte NPY Werte in ursächlichem Zusammenhang stehen (McShane et al. 1992, Malven et al. 1992). Der Ansatzpunkt für die verminderte LH Sekretion ist vermutlich der Y_2 -Rezeptor im Hypothalamus (Barker-Gibb et al. 1995). Neuere Untersuchungen bestätigen einen Anstieg der NPY Konzentration im Hypothalamus restriktiv gefütterter Tiere, allerdings ohne einen Einfluß auf die LH Sekretion (Barker-Gibb und Clarke 1996).

Insulin-like-Growth Factor 1 (IGF1)

IGF1 ist ein Wachstumsfaktor, der in seiner Struktur dem Proinsulin ähnelt. Es wird in seiner Wirksamkeit unterschiedlich beurteilt. Präpubertär scheint IGF1 den Eintritt der Pubertät durch Stimulierung der GnRH Sekretion zu beschleunigen (Hiney et al. 1996). Andererseits stellt sich IGF1 als Suppressor der GnRH Sekretion dar (siehe unten). Es wird diskutiert, ob IGF1 als Antagonist von NMDA wirksam sein könnte (Bourguignon et al. 1993).

IGF1 bindet an die Granulosazellen des Ovars und beeinflusst die Östradiolaktivität der Follikel durch Stimulierung des Aromatase Enzymsystems, das Androgen in Östradiol konvertiert (Roche und Diskin 1994). Über diesen Umweg beeinflusst es so auch die GnRH Pulsation (Kolb und Elze 1995). Diese Ergebnisse stimmen mit den Daten von Spicer et al. (1990) überein, in denen mit steigender Energiebilanz steigende IGF1 Werte und höhere Progesteronspiegel im Interöstrus gefunden werden. Milchleistung und IGF1 Sekretion verhalten sich nach den Untersuchungen dieses Autors entgegengesetzt proportional.

ACTH/Cortisol

Experimentell ist erwiesen, daß Dexamethason die Brunst bei Rindern, Pferden, Schafen und Schweinen unterdrückt. Wiederholter Streß erhöht den Corticosteroidspiegel und supprimiert die LH Sekretion (Stoebel und Moberg 1982, Kolb und Elze 1995). Unklar ist, ob der Ansatzpunkt der Corticosteroide hypophysär oder hypothalamisch ist. ACTH Applikationen erhöhen den Cortisolgehalt im Serum genauso wie den Progesteronspiegel im Proöstrus (Allrich 1994)

γ -Amino-Buttersäure (GABA)

γ -Amino-Buttersäure ist vermutlich der Mediator, der die Wirkung von Östradiol und Progesteron auf den Hypothalamus vermittelt. Da die GnRH Neurone nicht über nachweisbare Progesteron und Östradiolrezeptoren verfügen, muß ein anderer Neurotransmitter deren Wirkung induzieren (Robinson 1995).

Mikrodialytische Messungen ergaben einen signifikanten Abfall von γ -Amino-Buttersäure zeitgleich zur experimentellen Östradiolapplikation mit nachfolgendem Anstieg des LH Spiegels (Robinson 1995).

In der gleichen Studie konnte nachgewiesen werden, daß mit der Applikation von Progesteron an ovariectomierte Tiere der LH Ausstoß und der γ -Amino-Buttersäure Spiegel in der Area praeoptica signifikant gesenkt werden konnte (Robinson 1995).

Diese Ergebnisse sprechen für eine Involvierung gaba-erger Neuronensysteme in den Feedback Mechanismus der Steroide auf den Hypothalamus.

Inhibin

Inhibin ist ein Glycoprotein aus zwei Untereinheiten, der α - und β -Kette, die durch Disulfid-Brücken zusammengehalten werden. Die Follikelflüssigkeit des Rindes ist besonders reich an Inhibin. Werden Hypophysenzellkulturen von Ratten mit Inhibin versetzt, sinkt die Anzahl der GnRH Rezeptoren (Wang et al. 1988), beziehungsweise wird die up-regulation verhindert (Wang et al. 1989). Inhibin erhöht nach anderen Autoren die Anzahl der GnRH Rezeptoren und die GnRH Sensibilität in vitro (Laws et al. 1990). Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Braden (1990), nach denen die basale Anzahl der GnRH Rezeptoren von Inhibin unbeeinflusst bleiben soll.

Laktation/Suckling

Entfernen des Kalbes in der Puerperalphase bei Fleischrindern beschleunigt das Wiedereinsetzen der Zyklizität. Der neurale Stimulus scheint direkten Einfluß auf den Hypothalamus zu haben (Allrich et al. 1985). Die Milchdrüse und deren Innervation ist irrelevant für die postpartale Ovulationsruhe bei Mutterkühen. Dies konnte durch Versuche mit denervierten Tieren und unterbrochenem oral-inguinalem Kontakt zwischen Kuh und Kalb nachgewiesen werden. Selbst das Ersetzen des eigenen Kalbes durch ein fremdes Kalb führt nicht zu dem gleichen anovulativen Effekt. Vielmehr ist es die Kombination aus Vision und Olfaktion, die den ovulationshemmenden Effekt des saugenden Kalbes bei Mutterkühen induziert (Williams et al. 1996). Die Reaktion auf exogene GnRH Applikation wird durch Entfernen des Kalbes bei Fleischrindern intensiviert und terminiert (Allrich et al. 1985).

Gonadotrophin-surge attenuating factor (GnSAF)

Aus der Beobachtung, daß eine Asynchronizität zwischen Anstieg der GnRH Sekretion und LH Peak vor der Ovulation besteht (Clarke 1995), wurde die Existenz eines inhibierenden Faktors geschlossen, der, ähnlich dem Östradiol, eine negative feedback Wirkung auf das Hypothalamus-Hypophysen System besitzt (Busbridge et al. 1990, Fowler et al. 1990, Danforth und Cheng 1993). Dessen nähere Charakterisierung steht allerdings noch aus.

2.1.3. Struktur und Wirkung von LH, isomere Formen

LH ist ein Glykoprotein, das aus zwei Untereinheiten zusammengesetzt ist: α - und β -Untereinheit (Braden und Conn 1990). Die α -Untereinheit ist gemeinsamer Baustein für LH, FSH, TSH und HCG. Die β -Untereinheit ist die spezifizierende Baueinheit (Pierce und Parsons 1981). GnRH stimuliert die Synthese der β -Untereinheit des LH (Braden und Conn 1990). Es ist bekannt, daß LH in zwei unterschiedlichen Formen vorliegt. Man unterscheidet einen Speicherpool und einen schnell freisetzbaren Pool (Döcke 1994). Der Kohlenhydratanteil des LH ist starken Schwankungen unterworfen. Sowohl Galaktose, Mannose, Galaktosamin, Glucosamin als auch Sialinsäure wurden gefunden (Döcke 1994). Auf diese Weise entstehen verschieden Isoformen, die unterschiedliche biologische Aktivitäten aufweisen, aber gleiche Immunreaktivität haben (Meng et al. 1998). Jolly (1995) betont die Möglichkeit unterschiedlicher Einflußnahme dieser Isoformen auf das Hypothalamus-Hypophysensystem.

Der Mechanismus, der den präovulatorischen LH Peak beendet, ist unklar. Ein Abfall der biologischen Wirksamkeit von GnRH scheidet aus (Caraty et al. 1995). Erläuterungsversuche sind entweder eine vollständige Entleerung der LH Bestände aus der Hypophyse (Crowder und Nett 1984) oder eine Desensitivierung der Hypophyse (Nett et al. 1981).

2.1.4. Rückkopplungsmechanismen von Ovar und Uterus auf Hypothalamus und Hypophyse

Die Wirkungen der Ovarsteroiden auf den Hypothalamus wurde weiter oben beschrieben.

Östradiolwirkungen

In der Östradiol dominierten Follikelphase sind die LH Pulsationen höher frequent als in der Lutealphase (Schallenberger 1985). Das Anwachsen der LH Pulsfrequenz beim Übergang von der Luteal- zur Follikelphase wird als Wegfall des negativen Feedback des Progesterons gedeutet (Clarke 1989). Plasmaöstradiolwerte von 3 pg/ml bei ovariectomierten Schafen (OVX-Schafe) senken die GnRH Sekretion und die Sensibilität der Hypophyse für exogenes GnRH (Karsch et al. 1987, Goodman und Karsch 1980). Martin et al. (1983) beobachteten, daß Östradiol allein keine Senkung der LH Sekretion bewirken kann. Die synergistische Wirkung von Progesteron und Östradiol ist dazu notwendig.

Östradiol wirkt demzufolge durch einen kurzzeitigen, potenten negativen Feedback-Mechanismus auf hypophysärer Ebene, gefolgt von einem mengenabhängigen, positiven Feedback. Progesteronwerte über 0,5 ng/ml inhibieren die positive Feedbackwirkung (Schallenberger und Prokopp 1982, Clarke 1989). In den ersten fünf Tagen post partum ist der positive Östradiol bedingte Feedback ebenfalls nicht zu beobachten (Schallenberger und Prokopp 1985). Bei Rindern steigt der Östradiolspiegel nicht kontinuierlich, sondern in intermittierenden, einige Stunden andauernden Wellen. Um den ovulationsinduzierenden LH Peak zu ermöglichen, muß wenige Stunden vorher der Östradiolspiegel erniedrigt sein (Walters und Schallenberger 1984).

Progesteronwirkungen

Der hohe Progesteronspiegel in der Lutealphase beeinflusst nicht die Reaktivität der Hypophyse für GnRH (Goodman und Karsch 1980). Demgegenüber stehen die Beobachtungen von Leung et al. (1984), nach denen 36 Stunden nach Entfernen von Progesteron Implantaten die Reaktivität der Hypophyse für GnRH steigt. Werden ovariectomierte Schafe mit Progesteron behandelt, so daß deren Plasmaprogesteronspiegel über 5 ng/ml steigt, sinkt die LH Sekretion zwar, aber der mRNA-Spiegel der Hypophyse für LH bleibt unverändert (Hamernick et al. 1987). Progesteron senkt also die LH Sekretion,

offenbar nicht aber seine Biosynthese. Auch die Anzahl der GnRH Rezeptoren in der Hypophyse wird durch Progesteron nicht beeinflusst (Moss et al. 1981).

In der Follikelphase sind die LH Pulse höher frequent und von größerer Amplitude als in der Progesteron dominierten Lutealphase (Schallenberger et al. 1984). Auch die GnRH Pulsation ist in der Follikelphase deutlich höher als in der Lutealphase. Auch die Pulsamplitude ist höher als in der Follikelphase (Clarke 1988).

Beide Ovarsteroiden sind in ihrer Bedeutung für das Brunstverhalten gesondert zu betrachten. Östradiol induziert das Brunstverhalten nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip. Ist eine bestimmte Menge Östradiol bei niedrigem Progesteronspiegel vorhanden, zeigt das Tier Brunstverhalten. Weitere Steigerungen von Östradiol bewirken keine Intensivierung der Brunstsymptome.

Progesteron dagegen ist dominanter Brunstinhibitor. Es ist zu beachten, daß post partum das Brunstverhalten deshalb zur ersten Ovulation wenig oder gar nicht ausgeprägt ist, weil eine vorübergehende, ausreichende Progesteronmenge dafür unerlässlich und nicht vorhanden ist (Allrich 1994). Der Hypothalamus und/oder die Hypophyse sind durch die ausgeprägte Östradioldominanz in der letzten Phase der Gravidität scheinbar nachhaltig für die brunstinduzierende Wirkung von Östradiol refraktär. Das Progesteron des Corpus luteum aus dem ersten ovulierenden Follikel hat eine „Reset“-Wirkung auf den Hypothalamus und/oder die Hypophysensysteme. Ohne diese Wirkung zeigt das Tier keine Brunst (Allrich 1994).

2.1.5 Sekretionsmuster von GnRH, LH/FSH, Östradiol und Progesteron in der Hochlaktation

GnRH

Detaillierte Meßwerte über das Sekretionsmuster von GnRH bei Milchkühen in der Hochlaktation liegen nicht vor. Weder eine direkte Portalvenenpunktion noch ein indirekter Nachweis von GnRH im Liquor cerebrospinalis wurden bei Milchkühen in dieser speziellen Stoffwechselfase durchgeführt.

LH/FSH

Die Entwicklung der LH Sekretion post partum wurde von Schallenberger et al. (1982) untersucht. Eine diskontinuierliche LH Sekretion setzt etwa ab dem vierten Tag post partum ein. Messungen wurden an Tag 4, 11, 18 und 25 post partum vorgenommen. Die anfänglich diskontinuierliche Sekretion steigerte sich zwischen dem 11. und dem 25. Tag zu einem Puls/h. Die Pulsfrequenz bei anöstrischen Tieren war einer stetigen Steigerung unterworfen. Tabelle 1 gibt einen Überblick der Untersuchungsergebnisse der Arbeit von Schallenberger.

Tabelle 1: Charakteristisches LH Sekretionsmuster postpartal anöstrischer Kühe (Schallenberger et al. 1982)

LH Sekretionscharakteristika	Tag post partum			
	4	11	18	25
n	8	6	3	1
Mittelwert (ng/ml)	0,7	1,1	1,2	1,3
Pulsintervall (Min)	254	186	145	105
Amplitude (ng/ml)	0,6	1,0	0,9	0,8

Die FSH Sekretion post partum stellte sich bei der Gesamtheit der untersuchten Kühe etwas anders dar, wie Tabelle 2 verdeutlicht.

Tabelle 2: Charakteristisches FSH Sekretionsmuster post partum (Schallenberger et al. 1982)

FSH Sekretionscharakteristika	Tag post partum				
	1	4	11	18	25
n	5	5	5	5	5
Mittelwert (ng/ml)	125 ± 37	232 ± 45	270 ± 30	283 ± 44	299 ± 75
Pulsintervall (Min)	161 ± 6	113 ± 17	78 ± 8	78 ± 3	81 ± 3
Amplitude (ng/ml)	61	81	88	108	96

Östradiol und Follikelreifung

Der Östradiolgehalt des Serums ist postpartal von der Aktivität der Ovarien bestimmt. Das Zyklusgeschehen wird von endokrinen, neuroendokrinen, nutritiven, klimatischen, sozialen und genetischen Faktoren beeinflusst (Schirar und Martinet 1982). Follikel mit mehr als 5 mm im Durchmesser sind peripartal nicht vorhanden (Ryan et al. 1994). Große Follikel (≥ 10 mm) sind bei allen Kühen ab dem 10. Tag post partum zu finden. Der erste dominante Follikel nach der Geburt wird etwa am elften Tag erwartet (Roche et al. 1992). Andere Autoren beobachteten den ersten dominanten Follikel etwa 2 bis 3 Wochen nach der Kalbung. Dieser kommt auch zur Ovulation (Savio et al. 1990). Der erste dominante Follikel ovuliert jedoch nicht bei stark defizitär gefütterten Milchkühen (Jolly et al. 1995). Liegen ausgeprägte Fütterungsdefizite und damit eine negative Energiebilanz (NEB) vor, entwickeln sich die dominanten Follikel in modifizierter Form: Der Durchmesser und die Persistenz der dominanten Follikel tasten sich rhythmisch in einer bis neun Wellen an ovulationsfähige Größen heran (Jolly et al. 1995 nach McDougall et al. 1995). Der dominante Follikel kann nur ovulieren, wenn eine LH Pulsation etwa alle 40-60 Minuten erfolgt (Roche et al. 1992). Etwa drei bis vier Wochen nach der Geburt (24 ± 3 Tage) ist durch Applikation von GnRH bei Kühen mit einem Follikel ≥ 10 mm in 9 von 10 Fällen eine Ovulation induzierbar. Bei stark negativer Energiebilanz wird dabei im Anschluß eine verkürzte Lutealphase und eine Rückkehr zu Anovulation beobachtet (McDougall 1994). Hohe Milchleistung und damit eine ausgeprägte negative Energiebilanz schlägt sich in der Hochlaktation in deutlich vermehrt auftretender Stillbrünstigkeit nieder (Schopper et al. 1993).

Britt (1992) weist darauf hin, daß die Entwicklung eines Follikels von der Antrumbildung bis zur Ovulationsfähigkeit über 40 Tage dauert, und die Reifung vom Primärfollikel bis zum Graaf'schen Follikel mindestens 60 bis 80 Tage benötigt. Diese Beobachtung impliziert, daß

sich die obengenannten zyklusbestimmenden Faktoren erst retardiert in der Follikelaktivität niederschlagen.

Tabelle 3: Östradiolwerte in den ersten beiden Wochen post partum in Abhängigkeit von der ersten Ovulation (Stevenson und Britt 1979)

Woche	Erste Ovulation zwischen Tag		
	9 und 14	15 und 20	21 und 34
Östradiol (pg/ml)			
1	7,2 ± 1	7,2 ± 1	15,5 ± 2
2	10,5 ± 2	8,5 ± 1	8,8 ± 2

Progesteron

Wie der Östradiolspiegel, ist auch der Progesteronspiegel im Plasma abhängig von der Ovaraktivität. Der Nachweis für Progesteron kann sowohl in der Milch als auch im Plasma geführt werden.

Der Progesteron Gehalt erreicht seinen Spitzenwert etwa am zehnten Tag nach der Ovulation, hält diesen Wert für vier bis fünf Tage und fällt am 17. bis 18. Tag des Zyklus wieder ab.

In den ersten zehn Wochen post partum liegen die basalen Progesteron Werte im Plasma bei 0,3 bis 0,4 ng/ml. Die Höchstwerte liegen in den ersten beiden Wochen post partum bei 0,8 ng/ml, in der dritten Woche post partum bei 1,2 ng/ml und ab der vierten Woche post partum zwischen 2,9 bis 4,5 ng/ml (Pope 1982, Abeyawardene et al. 1984).

Die Progesteronwerte der Milch verhalten sich in der Tendenz entsprechend den Werten aus dem Plasma. Unterschiedlich ist die heterogene Verteilung des Progesterons in den verschiedenen Melkphasen. Der Progesterongehalt der Milch ist direkt proportional zu deren Fettgehalt und deshalb im Endgemelk am höchsten (Hoffman und Hamburger 1973).

2.1.6. Therapeutischer Einsatz von GnRH zur Zyklusinduktion

GnRH und seine Analoga bewirken einen drei bis fünfstündigen Anstieg sowohl der Östradiol als auch der LH/FSH Sekretion (Peters et al. 1985). Dennoch wird die zyklusinduzierende Wirkung von GnRH in der Literatur widersprüchlich diskutiert. Die Ursache für die zum Teil gegensätzlichen Mitteilungen sind unter anderem wahrscheinlich in der Abhängigkeit der Wirkung vom jeweiligen Zyklusstand und von der Ernährungslage zu suchen. Injektionen im Interöstrus steigern die Progesteronproduktion des Corpus luteum und verzögern seine Rückbildung. Im Östrus verabreichtes GnRH soll die Follikelanbildung synchronisieren und die Ovulation fördern (Thatcher et al. 1993). Frühe Untersuchungen fanden bei Verabreichung von GnRH einen beschleunigten Zyklusstart und verringerte Zysteninzidenz bei unbeeinflusster Brunstäußerung (Küpfer und Stämpfli 1981). Die Wirkung von GnRH ist auch abhängig von der Laktationsnummer der behandelten Tiere. Verabreichung von GnRH im Puerperium senkt die Konzeptionsrate bei Erstkalbinnen um 8 % und steigert sie bei Tieren in der zweiten Laktation um 7 % (Heuwieser et al. 1995).

Tabelle 4: Einfluß von GnRH im Puerperium auf die LH Sekretion bzw die Fruchtbarkeit (modifiziert nach Heuwieser 1990)

Autor	Einfluß positiv	Einfluß negativ	Einfluß indifferent
Bosu et al. (1988)	•		
Peter und Bosu (1988)	•		
Stevenson und Call (1988)			•
Aboul-Ela und El-Keraby (1986)	•		
Benmrad und Stevenson (1986)	•		
Ehterington et al. (1985)		•	
Cavestany und Foote (1985)			•
Lee et al. (1983)	•		
Fernandes et al. (1987)			•
Foster et al. (1980)			•
Riley et al. (1981)			•
Brown (1985)	•		
Heuwieser et al. (1995)			•
Bostedt et al. (1980)	•		
Archbald et al. (1991)	•		
Leslie et al. (1984)	•		
Nash et al. (1980)	•		
Richardson et al. (1983)			•

2.2 Energiebilanz post partum

2.2.1. Laktationsverlauf und Trockenmasseaufnahmekapazität

Mit Beginn der Laktation ist die gesamte Nährstoffverteilung des Organismus einem grundlegenden Wandel unterworfen, der mit größten Stoffwechselbelastungen einhergeht. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die involvierten Organsysteme.

Tabelle 5: Metabolische Veränderungen des Organismus mit Beginn der Laktation (Bauman und Currie 1980)

Physiologische Funktion	Metabolische Veränderung	Beteiligte Gewebe
Milchsynthese	Ansteigender Nährstoffbedarf	Milchdrüse
Fettstoffwechsel	Ansteigende Lipolyse Sinkende Lipogenese	Fettgewebe
Kohlenhydratstoffwechsel	Ansteigende Glukoneogenese Ansteigende Glycogenolyse Sinkende Glucoseutilisierung Wachsende Fettsäurenutilisierung	Leber Gesamtes Gewebe
Proteinstoffwechsel	Mobilisierung von Proteinreserven	Muskel und andere Gewebe
Mineralstoffhaushalt	gesteigerte Absorption und Mobilisierung von Calcium	Niere, Leber, Darm Knochen

Die Milchproduktion der Tiere steigt nach der Kalbung mit hoher Geschwindigkeit. Der Höchstwert wird in der zweiten Laktationswoche mit bis zu 40 kg FCM/Tag beobachtet (Staples et al. 1990). Der Verlauf der Laktationskurve ist variabel und leistungsabhängig. Der Zeitpunkt, an dem der Laktationspeak erreicht wird, kann sich bis zur achten Woche postpartum verzögern. Diese Werte stehen im Gegensatz zu der Entwicklung der Fähigkeit der Tiere, Trockensubstanz aufzunehmen.

Hier werden Trockenmassewerte von 1,6 bis 1,9 % des Körpergewichtes zu Laktationsbeginn erreicht, die erst in der zehnten Laktationswoche auf 3 bis 3,7 % des Körpergewichtes ansteigen (Staples et al. 1990). Die Futteraufnahmekapazität steigt in Ausnahmefällen bei Hochleistungstieren mit ausgeglichener Ration auf maximal 4,5 % des Körpergewichtes (Harrison et al. 1990). Von großer Bedeutung ist hier der Einfluß der Übergangsphase von der Trockenstehperiode in die Laktationsperiode: Während des Trockenstehens bildet sich das Pansenepithel zurück und erreicht in Abhängigkeit vom Fütterungsregime erst acht bis zehn Wochen post partum seine maximale Länge wieder (Dirksen et al. 1984).

2.2.2. Verlauf und Ausmaß der negativen Energiebilanz

Die oben beschriebene Asynchronizität zwischen Milchleistungspeak und Steigerung der Futteraufnahmekapazität führt in der Frühlaktation zu einer negativen Energiebilanz (NEB). Der Maximalwert oder Nadir der negativen Energiebilanz wird etwa in der zweiten Laktationswoche erreicht (Tag $11,9 \pm 1,3$, Canfield und Butler 1990). Die Dauer der NEB wird unterschiedlich angegeben. Die Energiebilanz bleibt negativ für fünf Wochen (Butler und Smith 1989), zehn Wochen (Baumann und Currie 1980) beziehungsweise 16 Wochen (Butler 1992).

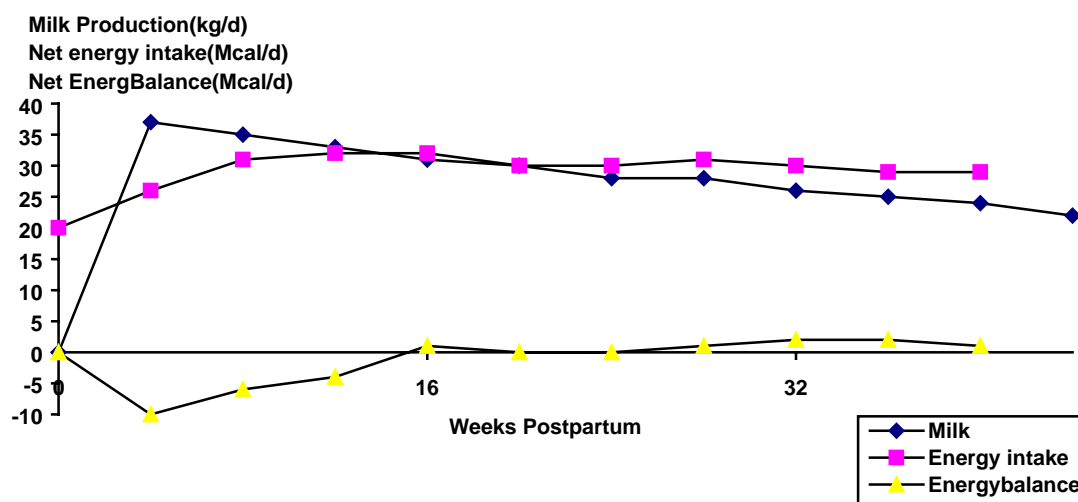


Abbildung 1: Verlauf und Ausmaß der negativen Energiebilanz post partum (Butler 1992)

Als Folge dieser Stoffwechsellage verlieren Hochleistungskühe in den ersten drei Wochen nach der Geburt etwa 10 % ihres Körpergewichtes (Macmillan 1996). Gleichzeitig verbrauchen Tiere mit einer Milchleistung über 25 kg/Tag etwa ein Viertel des gesamten Sauerstoffes im Lebermetabolismus (Huntington 1990).

Die Kapazität der Trockenmasseaufnahme hat einen größeren Einfluß auf die Energiebilanz als die Milchleistung (Villa-Godoy et al. 1988).

2.2.3. Veränderung der Milchinhaltsstoffe durch Energiemangel und Veränderung der Körperkondition durch die negative Energiebilanz

Als Folge des postpartalen Energiedefizites werden verstärkt kurzkettige Fettsäuren der Pansenfermentation zur Glukoneogenese genutzt und Lipolyseprozesse forciert (Young 1977). Verschiedene Parameter in der Milch können mit dem Energiedefizit direkt korreliert sein:

Phosphoenolpyruvat (PEP)

PEP ist ein energiereicher Metabolit des Intermediärstoffwechsels der Milchdrüse, der in der Milch und im Euterparenchym in fast identischer Konzentration vorliegt (Faulkner 1980).

Phosphoenolpyruvat ist ein zentrales Substrat der Glukoneogenese und wird von Alveolarepithelien durch ekkrine und apokrine Sekretion in die Milch abgegeben (Faulkner et al. 1985). Die höchsten PEP Werte in der Milch treten in den ersten drei bis vier Laktationswochen auf. Rohmilch enthält einen sekretorischen PEP Gehalt von etwa 0,6 bis 230 $\mu\text{mol/kg}$ (Stahlhut-Klipp und Rojahn 1987). Der sekretorische PEP Gehalt bietet die Möglichkeit, als Maßzahl für die Intensität der partiellen Glukoneogenese in der laktierenden Milchdrüse herangezogen zu werden.

Das Maximum der PEP Konzentration wird im ersten Monat post partum mit $104,2 \pm 51,2$ $\mu\text{mol/kg}$ erreicht. Es fällt bis zum sechsten Monat post partum auf $21,4 \pm 17,3$ $\mu\text{mol/kg}$ ab und pendelt sich bis zum Trockenstellen auf $13,7 \pm 10,7$ $\mu\text{mol/kg}$ ein (Müller 1988). PEP zerfällt in Rohmilch irreversibel zu Pyruvat. Der Zerfall findet spontan und ohne bakterielle Einwirkung statt (Muschik 1979).

Betahydroxybutyrat (BHB)

BHB entstammt der Pansenfermentation und der hepatischen Ketogenese. Stehen dem Organismus nicht hinreichend Glucose und Oxalacetat zur Umsetzung des im System gebildeten oder resorbierten BHB zur Verfügung, steigt dessen Konzentration im Blut und in der Milch. Der BHB Gehalt der Milch spiegelt dadurch indirekt die Stoffwechsellage wieder (Berger 1995). Durch die Verfütterung butyrathaltiger Futtermittel kann der BHB Gehalt der Milch allerdings beeinflusst werden.

Tabelle 6: Physiologische Bethydroxybutyrat Werte in der Milch (Berger 1995)

Autor/Jahr	Zeitspanne der Probennahme	Werte in mg/kg
Knodt et al. 1942	alle Laktationsstadien	8 ± 6
Paterson 1945	alle Laktationsstadien	4 - 17
Schultz und Myers 1959	Woche 1-12 post partum	15 - 18
Horber et al. 1980	Woche 1-12 post partum	5 ± 3
Andre 1983	Woche 1-12 post partum	16 ± 9
Rossow et al. 1987	alle Laktationsstadien	$\leq 16 - 25$
Schneider 1987	Woche 1-12 post partum	6 - 9
Stahlhut-Klipp und Rojahn 1987	alle Laktationsstadien	0,5 - 96
Müller 1988	alle Laktationsstadien	4 - 22
Zimmer 1988	alle Laktationsstadien	6 - 12
Schneider et al. 1989	Woche 1-12 post partum	3
Gundlich 1991	Woche 1-12 post partum	$5 \pm 0,2$

Aceton/Acetoacetat (Ac/AcAc)

Befindet sich der Organismus des Wiederkäuers in einer energetischen Mangelsituation, erfolgt die Hauptsynthese der Ketonkörper in der Leber. Die Ketonkörper passieren die Leberzellen frei und die Ausscheidungsrate über Milch und Harn nimmt entsprechend zu. BHB und Acetoacetat werden bevorzugt in Herz- und Skelettmuskulatur, der Niere, im Gastrointestinaltrakt und in der Milchdrüse genutzt. Deshalb wurde im vorliegenden Versuch der Gehalt von Acetoacetat in der Milch als möglicher indirekter Parameter der Energiebilanz eingestuft. Aceton als Stoffwechselprodukt wird größtenteils über die Haut und die Atemluft ausgeschieden.

Tabelle 7: Vorstufen und Produkte der Ketogenese der Wiederkäuer (Berger 1995)

Gewebe	Vorstufe	Produkt
Verdauungstrakt	Butyrat	Betahydroxybutyrat
Leber	Freie Fettsäuren	Betahydroxybutyrat Acetoacetat
Milchdrüse	Acetat	Acetoacetat
	Betahydroxybutyrat	Acetoacetat

Das Verteilungsmuster von Aceton und Acetoacetat in der Milch wurde folgendermaßen beschrieben.

Tabelle 8: Aceton und Acetoacetat Konzentration in der Milch (Berger 1995)

Ac Gehalt mg/kg	AcAc Gehalt mg/kg	Autor/Jahr
3 - 5		Steger et al. 1972
2 - 3		Piatkowski et al. 1974
<10		Girschewski et al. 1977
	2 ± 2	Horber et al. 1980
	18 ± 7	Andre 1983
≤7		Unglaub 1983
<23		Anderson 1984
≤5	18 - 25	Rossow et al. 1987
5 ± 2		Süphke 1988
	4 - 5	Schneider et al. 1989
	<12	Rossow et al. 1990
<9		Miettinen et al. 1992

Körperkondition (Body condition scoring/BCS)

Die Beurteilung der Körperkondition stellt ein Hilfsmittel dar, um die Fettdepots und deren Mobilisierung post partum abzuschätzen (Otto et al. 1991). Die Methode wurde von verschiedenen Autoren in ihrer Anwendung bei Milchvieh beschrieben (Wildman et al. 1982, Edmonson et al. 1989). Die Abnahme um eine Einheit auf einer Fünfpunkteskala entspricht etwa einer kumulativen NEB von 400 Mcal (Ferguson 1991).

Tabelle 9: Veränderung der BCS Werte post partum (Heuwieser 1995)

Zeitpunkt der Beurteilung	Herde 1	Herde 2	Herde 3	Herde 4
	BCS Wert			
Partus	3,24	3,61	3,53	3,49
Tag 25-35	2,78	2,94	2,63	2,96
Erste Besamung	3,04	2,91	2,71	2,88

Die hier dokumentierte Abnahme der BCS Werte post partum und deren Zunahme zum Zeitpunkt der Besamung läßt vermuten, daß die Beurteilung der Körperkondition eine Methode darstellen könnte, anhand derer sich die negative Energiebilanz indirekt verfolgen läßt.

2.2.4. Einfluß der Energiebilanz auf die Fruchtbarkeit

Hohe Laktationsleistung und hohe Fruchtbarkeit stellen bei Hochleistungstieren einen Zielkonflikt dar. Dies wird deutlich im Vergleich der Konzeptionsraten von Färsen und Kühen. Der Erstbesamungserfolg bei Färsen liegt durchschnittlich bei 61%, der von Kühen bei 51% (Glatzel und Merck 1992). Die Konzeptionsrate liegt in nordamerikanischen Herden für Färsen bei 70 %, für Kühe bei 45 % (Smith et al. 1984, Nebel und McGilliard 1993). Eine unterdurchschnittliche Fruchtbarkeitsleistung ist allerdings nicht notwendigerweise mit überdurchschnittlicher Milchleistung korreliert (Macmillan et al. 1996). Tabelle 12 belegt diese These allerdings nicht.

Tabelle 10: Konzeptionsrate bei unterschiedlichen Leistungsklassen (Ferguson 1990)

Leistung in kg/Kuh/Tag	Konzeptionsrate in %	
	Studie 1 n=5.461	Studie 2 n=141.000
<5900	47	49
>5900 - 6800	43	45
>6800 - 7730	39	41
>7730 - 8640	38	39
>8640	30	38

Während der postpartalen Phase der Anovulation werden unter FSH Einfluß wiederholt Primordialfollikel in den Ovarien stimuliert. Erst wenn diese einen Durchmesser von 3 bis 6 Millimetern erreichen, werden sie östrogenaktiv und ein Follikel entwickelt sich zum dominanten Follikel (Formationsphase, FSH abhängig). Bei LH Pulsfrequenzen von weniger als einem Puls pro Stunde atresiert der Follikel. Bei ausreichender LH Pulsfrequenz kommt es zur Ovulation (Maturationsphase, LH abhängig). Die Ernährungssituation der Kuh, das Säugen des Kalbes und der negative Feedbackmechanismus des Progesterons beeinflussen dieses Geschehen.

Eine negative Energiebilanz verzögert bei Hochleistungskühen die erste Ovulation. Das Einsetzen der ersten Ovulation ist abhängig von der Zeit, die das Tier braucht, bis es den Nadir der negativen Energiebilanz durchschritten hat, beziehungsweise zu einer ausgeglichenen oder positiven Energiebilanz zurückkehrt. Dieser Vorgang wird von einem Anstieg der LH Pulsfrequenz begleitet (Butler und Elrod 1992).

Die negative Energiebilanz hat eine geringe LH Pulsfrequenz zur Folge (Butler und Canfield 1990). Es wird aber auch von einer geringeren Anzahl von Follikeln in der Formationsphase mit einem kleineren Durchmesser als 10 mm berichtet (Murphy 1991). Dies wiederum führt zu geringer Östrogenaktivität der Follikel in der Formationsphase und zu verspäteter erster postpartaler Ovulation.

Ein Energiemangel ist die wahrscheinlichste Erklärung für diese Vorgänge (Roche und Diskin 1994). Rasby et al. (1992) unterstützen mit ihren Ergebnissen diese Erkenntnisse. Das Abfallen des BCS Wertes geht mit einer Verringerung des GnRH Gehaltes des Hypothalamus und Beeinflussung der Reaktionsfähigkeit der Hypophyse einher, nicht aber mit einer

Konzentrationsveränderung von LH in der Hypophyse (Rasby et al. 1992). Der Verlauf der BCS Kurve hat jedoch keinen Einfluß auf die Brunstintensität und die Zykluslänge (Staples et al. 1990, Villa-Godoy et al. 1990). Das Ausmaß der NEB beeinflußt die Fruchtbarkeit der Kühe weniger als die Geschwindigkeit, mit der der Nadir erreicht wird (Canfield und Butler 1990). Diese Zeitspanne ist auch direkt proportional zur Zeit bis zur ersten Ovulation post partum. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß die LH Pulsfrequenz und Basissekretion nach Erreichen des Nadir erhöht ist (Canfield und Butler 1991). Der Insulinspiegel stimuliert in vitro die Proliferation der Granulosazellen, die Glucoseutilisation dieser Zellen und indirekt die Synthese von Epidermal growth factor (EGF), Fibroblast growth factor (FGF), Insulin-like growth factors (IGFs) und Transforming factors (TGFs) in den Granulosazellen (Savion et al. 1981, Maruo et al. 1993). Diese Beobachtungen stützen die Hypothese, daß es die Insulinwirkungen sind, die für die positive Korrelation großer Maturationsfollikel mit der Energiebilanz beziehungsweise die negative Korrelation kleiner Formationsfollikel mit der Energiebilanz ursächlich sind.

Nach der ersten Ovulation post partum sind auch die Progesteronwerte im Plasma im Interöstrus höher, wenn die Tiere zu dieser Zeit eine positive Energiebilanz aufweisen (Spicer et al. 1990). Das impliziert auch einen Einfluß der Energiebilanz auf die Lutealphase.

3. Material und Methode

3.1. Material

3.1.1. GnRH

Wie in 2.1.1. dargestellt, handelt es sich bei GnRH um ein Dekapeptid, das bei Rindern die Primärstruktur pGlu - His - Trp - Ser - Tyr - Gly - Leu - Arg - Pro - Gly - NH₂ besitzt.

Die biologische Halbwertszeit von GnRH beträgt nur wenige Minuten. Aus diesem Grunde wurde eine Vielzahl von Analoga entwickelt, die sowohl verlängerte als auch verstärkte Freisetzung von LH nach sich ziehen.

Die modifizierten Formen weisen eine verzögerte Inaktivierung durch Peptidasen auf.

Um die Sensibilität der Hypophyse in Abhängigkeit von verschiedenen Stoffwechsellagen und -parametern zu testen, wurde im vorliegenden Versuch der Einsatz von originärem GnRH (Fertagyl®, Firma Intervet, Tönisvorst) vorgezogen.

Damit sollte den physiologischen Verhältnissen genüge getan werden.

Die intramuskulär verabreichte Dosis betrug 500 µg GnRH pro Tier.

3.1.2. Versuchstiere und Gruppengestaltung

Der Versuch wurde an der Lehr- und Versuchsanstalt für Tierhaltung und Technik des Landes Sachsen-Anhalt in Iden zwischen Oktober und Dezember 1995 durchgeführt.

Bei der Herde handelt es sich um Tiere der Rasse Deutsche Schwarzbunte mit einem Holstein-Friesian-Anteil von 87%. Der Durchschnitt der Herdenleistung lag bei 8000 kg FCM. Die Tiere wurden zufällig ausgewählt.

Die Kühe standen in der ersten (10 Tiere), der zweiten (11 Tiere) oder in der dritten Laktation (9 Tiere). Die durchschnittliche Milchleistung der Prüfungstiere lag bei 7700 kg FCM.

Die Tiere wurden für vier Tage post partum in einer Abkalbebox und dann in einem Boxenlaufstall gehalten.

Bei allen Tieren wurde die tägliche Futteraufnahme, die tägliche Milchleistung und wöchentlich das Körpergewicht erfaßt. Eine Analyse der Milchinhaltsstoffe und eine Rationsanalyse wurden wöchentlich durchgeführt. Aufgrund dieser Daten wurde zweimal wöchentlich die Energiebilanz nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Energiebilanz (MJ NEL)} = \text{Energiegehalt der Ration} - (\text{Erhaltungsbedarf} + \text{Leistungsbedarf})$$

Diese Berechnung erfolgte am Ende der Woche für die vorhergehende Woche.

Der Versuchsentwurf sah drei Versuchsgruppen und eine Kontrollgruppe vor.

Gruppen 1 bis 3 erhielten GnRH in unterschiedlichen Stadien der Energiebilanz.

Entscheidend für die Zuordnung zu einer der Versuchsgruppen war allein der Verlauf der Energiebilanzkurve.

Für die Untersuchung zum Vergleich indirekter Stoffwechselfparameter als Indikator für die negative Energiebilanz wurden die Werte aller Tiere, ungeachtet ihrer Gruppenzugehörigkeit im ersten Versuchsteil, gemeinsam herangezogen.

Gruppe 1: GnRH Gabe am Nadir (n = 7)

Die Tiere der ersten Gruppe wurden zum Zeitpunkt des tiefsten Punktes der Energiebilanz (Nadir) mit GnRH behandelt.

Sobald der Wendepunkt der individuellen Energiebilanzkurve zu erkennen war, wurde das Tier zum nächstmöglichen Zeitpunkt in den Versuch genommen. Die maximale Verzögerungszeit nach dem Nadir betrug 7 Tage

Gruppe 2: GnRH Gabe, nachdem das Energiedefizit um 1/3 des Maximalwertes ausgeglichen wurde (n = 6)

Der Wert am Wendepunkt der individuellen Energiebilanzkurve (Nadir) wurde durch drei dividiert und vom Wert des Nadir subtrahiert. Sobald sich der Verlauf der Energiebilanzkurve mit diesem Wert deckte, wurde das Tier in den Versuch genommen.

Gruppe 3: GnRH Gabe, nachdem das Energiedefizit um 2/3 des Maximalwertes ausgeglichen wurde (n = 10)

Der Wert des Nadir wurde durch drei dividiert, mit zwei multipliziert und vom Nadir subtrahiert. Sobald auf der Energiebilanzkurve dieser Wert erreicht war, wurde das Tier in den Versuch genommen.

Gruppe 4: Kontrollgruppe (n = 7)

Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten zu unterschiedlichen Energieniveaustadien statt GnRH eine gleichgroße Menge physiologische Kochsalzlösung (5 ml) intramuskulär injiziert.

Jedes Tier wurde vor dem Versuch gynäkologisch untersucht, Ovar - und Uterusbefund schriftlich fixiert. Bei klinischer Auffälligkeit wurde die Kuh vom Versuch ausgeschlossen. Als klinisch unauffällig wurden die Tiere bezeichnet, deren Nachgeburt spätestens sechs Stunden nach der Geburt abgegangen war, deren Uterus bis zum zehnten Tag post partum mindestens kontraktile Längsfaltenbildung (G III bis G IV) aufwies und deren Lochialfluß geruchlos war. Innerhalb des zehnten bis zwanzigsten Tages nach der Geburt mußte der Uterus auf beiden Hörnern bis zur Größe von drei Fingern (G III) zurückgebildet sein. Die Tiere wurden einer regelmäßigen Euteruntersuchung unterzogen und klinisch auffällige Tiere schieden aus dem Versuch aus.

3.1.3. Fütterung

In der Einzelfütterungsanlage der Lehr-und Versuchsanstalt Iden wurde die Futteraufnahme jeden Tieres täglich erfaßt.

Die Totale Mischration wurde zweimal täglich vorgelegt. Die Tiere waren in drei Leistungsgruppen unterteilt, die durch eine unterschiedliche Energiedichte der Ration charakterisiert waren:

Leistungsgruppe 1:	Altkühe > 27,5 kg FCM	
	Jungkühe > 23,5 kg FCM	7,0 MJNEL; 16,5 % RP/ kg TM
Leistungsgruppe 2:	Altkühe < 27,5 kg FCM	
	Jungkühe < 23,5 kg FCM	6,7 MJNEL; 15,0 % RP/ kg TM
Leistungsgruppe 3:	Altkühe < 18,0 kg FCM	
	Jungkühe < 16,0 kg FCM	6,1 MJNEL; 13,0 % RP/ kg TM

Die Ration bestand aus Anwelksilage, teigreifer Maissilage, Sojaextraktionsschrot und Milchleistungsfutter 18/3. Die Silagen wurden einmal wöchentlich einer Roh Nährstoffanalyse unterzogen. Täglich wurde der Anteil an Trockensubstanz durch Schnelltest bestimmt.

Alle vier Wochen wurde die gefütterte Silage bezüglich Ca, P, Na, K, Mg, Cu und Mn sowie Gär säure, Stärke/Zuckergehalt und β -Carotin untersucht.

Die Tiere wurden zweimal täglich gemolken, die Milchmenge jeder Kuh bei jedem Melkvorgang erfaßt. Kühe, die durch klinische Anzeichen einer Mastitis oder Sekretionsstörung auffielen, wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

3.1.4. Probennahme Milch und Blut

3.1.4.1. Milch

Am Wochenbeginn (montags) wurde von allen Kühen eine Milchprobe genommen, die noch am gleichen Tag auf Milchfett, Milcheiweiß, Laktose und Aceton untersucht wurde.

Gleichzeitig wurden Milchproben durch Zusatz von 50 %iger Trichloressigsäure im Verhältnis 1:10 konserviert und innerhalb von drei Wochen photometrisch auf

Betahydroxybutyrat, Acetoacetat und Phosphoenolpyruvat untersucht.

Zur Wochenmitte wurde aus dem Nachgemelk eine Milchprobe entnommen, die bei +4° C gelagert und auf die Konzentration von Progesteron untersucht wurde.

3.1.4.2. Blut

An zwei festgelegten Tagen in der Woche (Montag und Donnerstag) wurden die in die Untersuchung aufgenommenen Versuchstiere mit einem Jugularvenenkatheter versehen und für einen Zeitraum von 5 Stunden wurden im Abstand von 20 Minuten insgesamt 16

Blutproben entnommen (10 ml Probenröhrchen 1,6 mg Kalium-EDTA/ ml, Firma Sarstedt).

Die Proben wurden sofort in Eiswasser (+4°) gekühlt und nach spätestens 15 Minuten in einer Kühlzentrifuge (Labofuge 400R, Firma Heraeus, Hanau) für 10 Minuten bei +4° C und 3000 U/Min (1900 g) zentrifugiert.

Das Plasma wurde abpipettiert, aliquotiert und bei -18° C tiefgefroren.

3.2. Methoden

3.2.1. LH-Nachweismethode

Die Hormonassays wurden im Labor von Prof. Schallenberg, Institut für Tierhaltung und Tierzucht der Christian-Albrechts-Universität in Kiel durchgeführt.

3.2.1.1. Vorbereitung der Mikrotiterplatten

Zur Bestimmung der Plasma-LH-Konzentration wurde ein modifiziertes Testverfahren nach Hennies (1994) angewendet.

Die hormonspezifischen monoklonalen Antikörper wurden von Frau Dr. Sauerwein, Freising, nach engagierter Vermittlung von Frau Dr. Brückmann, Kiel, zur Verfügung gestellt.

Die Mikrotiterplatten (96 well Easy Wash, 430480, Corning, New York) wurden mit Schaf-Anti-Kaninchen-IgG-Antikörper beschichtet.

Die Antikörper wurden durch einfache Fällung mit Natriumsulfat gewonnen.

Jede Vertiefung wurde mit 100 µl in einer Antikörper-Konzentration von 1 µl/ml Beschichtungspuffer beschickt und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf dem Schüttler inkubiert.

Danach wurden die Platten mit 250 µl Assay-Puffer I (pro Liter 7,12 g Na₂HPO₄, 8,5 g NaCl, 1 g bovines Serumalbumin) beschichtet und für 30 Minuten bei Raumtemperatur auf dem Schüttler erneut inkubiert.

Nachdem dieser Vorgang abgeschlossen wurde, konnten die Platten nach Trocknung bei -18° C gelagert werden.

3.2.1.2. Testablauf

Nachdem die Mikrotiterplatten auf Raumtemperatur erwärmt und sechsmal gewaschen worden waren (SLT dispenser), wurden 50 µl Plasmaprobe bzw Standardverdünnung (0,1; 0,3; 0,6; 1,2; 2,5, 5; 10; 20; 40 ng LH) (United States Department of Agriculture) pro Vertiefung im Doppelansatz pipettiert.

Nach Zugabe von 100 µl Antikörperlösung (1 ng/ml) wurde der Ansatz für 20 bis 22 h bei Raumtemperatur auf dem Schüttler inkubiert.

Danach wurden die Platten zweimal gewaschen und mit 100 µl biotinisierendem ovinem LH (Mutayoba et al., 1990; Möller, 1991) in einer Konzentration von 11,85 µl/ml beschichtet und danach erneut für 30 Minuten auf dem Schüttler inkubiert.

Es folgte ein zweimaliger Waschvorgang und eine Beschickung der Platten mit 100 µl Streptavidin-Peroxidase Konjugat (200 ng/ml; SIGMA, Deisenhofen) pro Vertiefung und eine erneute Inkubation auf dem Schüttler.

Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Platten viermal gewaschen und mit 150 µl frisch angesetzter Substratlösung beschickt.

Die Farbreaktion wurde nach 45 Minuten mit 50 µl 2M H₂SO₄ gestoppt. Unmittelbar danach wurde die Extinktion der einzelnen Vertiefungen mit einem automatischen Plattenphotometer (Biotech Instruments) gemessen.

Maßstab der Sensitivität dieses EIA ist die untere Nachweisgrenze, d.h. die Hormonkonzentration, die sich noch signifikant vom Nullstandard unterscheidet.

Die Reproduzierbarkeit des Testes wurde durch den Intraassay-Variationskoeffizienten beziehungsweise den Interassay-Variationskoeffizienten festgelegt. Der Intraassay-Koeffizient wurde durch das Beschicken einer Platte mit jeweils einer niedrigen, einer mittleren und einer hohen LH-Konzentration ermittelt.

Der Interassay-Variationskoeffizient wurde dadurch bestimmt, daß in jeder Platte eine niedrige, eine mittlere und eine hohe LH Probe im Doppelansatz mitbestimmt wurde.

$$\text{Intra- bzw. Interassay-Variationskoeffizient} = \frac{\text{Standardabweichung}}{\text{Mittelwert}} \times 100\%$$

Der Messbereich lag zwischen 0,2 und 60 ng/ml, der Interassay-Variationskoeffizient betrug bei 10 ng/ml 7,6 %, bei 2 ng/ml 14,1 % und bei 0,2 ng/ml 21,7 %. Der Intraassay-Variationskoeffizient betrug 14,5 % ± 5,8 %.

3.2.2. Östradiolnachweis

Zur Bestimmung von Östradiol-17 β wurde das kommerzielle Testverfahren der Diagnostic Products Corporation Biermann GmbH angewandt. Es handelte sich um einen kompetitiven Radio Immuno Assay. Vor Testbeginn wurde eine Extraktion durchgeführt. 250 μ l Serum wurden mit 2 ml Äther versetzt und anschließend 30 Minuten geschüttelt. Es folgte eine fünfminütige Zentrifugation bei 1900 g. Die Proben wurden im Anschluß ausgefroren und abgedampft. Nach Zusatz eines Calliprators wurden 100 μ l Probe eingesetzt.

3.2.3. Progesteronnachweis

Der Progesteronnachweis wurde in zwei Medien geführt (Milch und Plasma). In beiden Fällen wurde ein kommerzielles Testverfahren verwendet (Biolab, München)

3.2.3.1. Progesteronnachweis Milch

Die Mikrotiterplatten waren mit monoklonalen anti-Progesteronantikörpern beschichtet. Es wurden bei Testbeginn 20 μ l des Standards (1, 2,5, 5, 15, 30 ng/ml) beziehungsweise der Proben im Doppelansatz pipettiert. Nach Zugabe von 100 μ l Verdünnungspuffer wurden die Platten bei Raumtemperatur auf dem Schüttler für 40 Minuten inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde 50 μ l Progesteron-Enzym-Konjugat zugegeben und weitere 40 Minuten auf dem Schüttler inkubiert. Danach folgte ein sechsmaliger Waschvorgang. 180 μ l des frisch angesetzten Substrates wurde je Cavität aufgetragen. Nach 30 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt und die Extinktion bei 436 nm gemessen.

3.2.3.2. Progesteronnachweis Plasma

Die Plasmaproben waren bei -18°C tiefgefroren und wurden vor Testdurchführung aufgetaut und erneut abzentrifugiert.

Der Testablauf entsprach dem unter 3.2.3.1. beschriebenen Ablauf für Milch.

3.2.4. Milchanalysen

Die Bestimmung von Betahydroxybutyrat, Acetoacetat und Phosphoenolpyruvat wurde enzymatisch im Labor von Prof. Stahlhut-Klipp an der Fachhochschule in Hannover durchgeführt. Sie erfolgt unter Anwendung der automatischen Durchflußanalyse. Das Reaktionsprinzip der Bestimmungen ist bei Bergmeier (1974) beschrieben.

3.2.5. Methodik der Körperkonditionsbewertung, Messung der Rückenfettdicke und Gewichtsbestimmung

3.2.5.1. Körperkonditionsbewertung (BCS)

Die Veränderung der Körperkondition der Versuchstiere wurde einmal wöchentlich erfaßt. Die Methode leitet sich von der von Wildman et al. (1982) beschriebenen Quantifizierung der Fettabdeckung der Becken- und Lendenregion bei Milchkühen ab. Es wurden, stets von einem Untersucher, acht definierte Punkte beurteilt und innerhalb einer Skala von 1 bis 5 in Viertelschritten benotet. Das arithmetische Mittel daraus ergab die Gesamtnote.

Tabelle 11: Übersicht der Beurteilungskriterien adaptiert nach Wildman et al. (1982)

	BCS Noten				
	1,0-1,25	1,5-2,5	2,75-3,5	3,75-4,5	4,75-5,0
Dornfortsätze	scharf hervortretend	einzelnerkennbar	durchgehende Linie	gerade noch sichtbar	nicht mehr erkennbar
Dorn - zu Querfortsätzen, Lende	rechtwinklig	scharf eingesenkt	leicht konkav	leicht konvex	gut abgerundet
Sichtbarkeit der Querfortsätze, Lende	zur Hälfte sichtbar	zu einem Drittel sichtbar	Spitzen sichtbar	nicht mehr sichtbar	gut abgerundet
Hungergrube rechts	extremer Sims	Sims	angedeuteter Sims	verstrichen	gut abgerundet
Hüfthöcker/ Sitzbeinhöcker	hervorstehend scharfwinklig	hervorstehend	sanft sichtbar	nicht mehr sichtbar	gut abgerundet
Oberschenkelbemuskulung	extrem hautbespannt	spitzwinklig eingesunken	dünne Bemuskulung	Verbindung leicht konkav	Verbindung konvex
Kreuzbeinabdeckung	extrem eingesunken	eingesunken	leicht konkav	eben	gut abgerundet
Becken- ausgangsgrube	tiefe Cavität	Einsenkung	angedeutete Einsenkung	ausgefüllt	Fettfalten

3.2.5.2. Messung der Rückenfettdicke

Die Rückenfettdicke wurde von der Arbeitsgruppe Dr. Fischer an der LVA Iden gemessen. Die Messungen wurden mit einem portablen Ultraschallgerät (Aloka, SSD-210-DX II) und einem Linear-Schallkopf im Frequenzbereich von 7,5 Mhz an folgenden Zeitpunkten durchgeführt: unmittelbar post partum, am 14. d post partum, am 28. d post partum, am 56. d post partum, am 105. d post partum und am 140. d post partum.

Festgelegter Messpunkt war eine Stelle handbreit cranial des Sitzbeinhöckers auf der rechten Seite des Tieres.

Nach Aufbringen von Pflanzenöl auf die Messtelle konnte anhand der unterschiedlichen Schalldichte von Fettgewebe und Muskelgewebe die Rückenfettdicke exakt gemessen werden

3.2.5.3. Gewichtsbestimmung

Die Gewichtsbestimmung wurde einmal wöchentlich durchgeführt.

Das Wiegen erfolgte immer am gleichen Tag unmittelbar nach dem Abendmelk mit einer stationären Waage der Firma Mettler.

3.2.6 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der erhobenen Meßwerte wurde mit Unterstützung des Institutes für Biometrie und Informationsverarbeitung der FU Berlin mit dem Statistikprogramm SPSS durchgeführt.

Zur Darstellung der Ergebnisse der Messungen der Lebendmasse, der Milchleistung, der Trockensubstanzaufnahme und der Energiebilanzen wurden jeweils der Median und das erste und dritte Quartil der Werte ermittelt und angegeben. Um die Werte der indirekten Stoffwechselfparameter in Relation zur Energiebilanz abzuschätzen, wurden Mittelwerte und Standardabweichungen herangezogen beziehungsweise Boxplot Darstellungen gewählt. Zur Auswertung der LH Konzentrationskurven wurde durch trapezoide Summation die Fläche unter der Kurve berechnet.

Der Vergleich der Gruppen wurde mit Hilfe des U-Test nach Mann und Whitney ausgeführt.

Zur Quantifizierung des linearen Zusammenhanges zwischen Energiebilanz und den indirekten Stoffwechselfparametern wurden Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet..

Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha = 5\%$ festgelegt. Auch bei paarweisen Vergleichen wurde dieser Wert beibehalten ohne Berücksichtigung der Abhängigkeit der Vergleiche untereinander.

4. Ergebnisse

4.1. Entwicklung der Stoffwechselfparameter

4.1.1 Entwicklung des Körpergewichtes

In Gruppe 1 ($n = 7$) betrug das Körpergewicht in der ersten Laktationswoche durchschnittlich 600,0 kg (550 kg bis 651 kg), in Gruppe 2 ($n = 6$) im Durchschnitt 613,8 kg (520 kg bis 662 kg), in Gruppe 3 ($n = 10$) durchschnittlich 621,4 kg (538 kg bis 685 kg) und in Gruppe 4 ($n = 7$) lag der Durchschnitt bei 562,4 kg (488 kg bis 680 kg). Die Veränderungen des Körpergewichtes in den folgenden Wochen in Bezug zu diesem ersten Meßwert aller Versuchs- und Kontrolltiere sind in Abbildung 2 als Boxplot dargestellt.

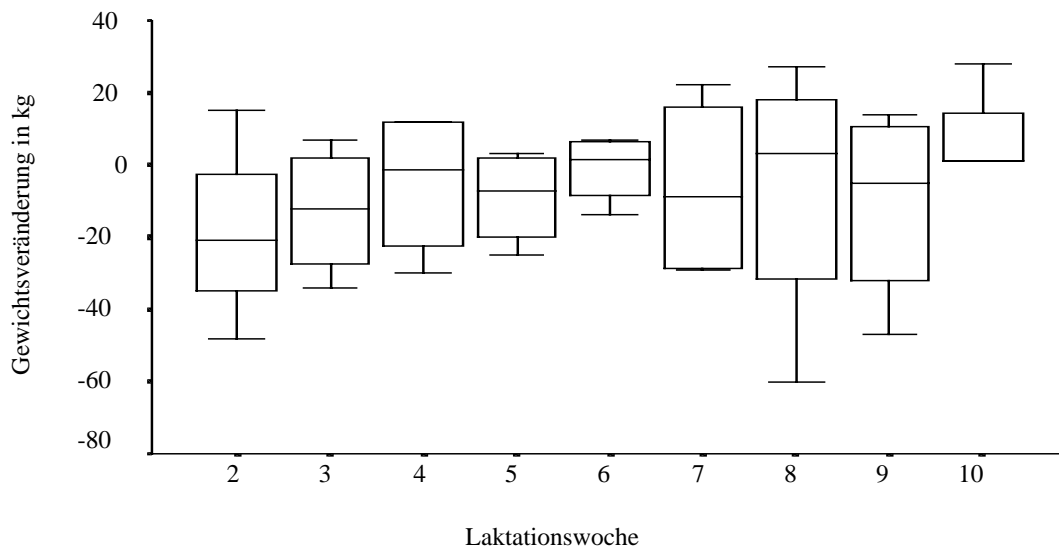


Abbildung 2: Veränderung des Körpergewichtes im Bezug zum Gewicht in der ersten Laktationswoche in Kilogramm von allen Tieren

Es wird deutlich, daß die Tiere in der zweiten bis vierten Woche einen sehr hohen Gewichtsverlust aufwiesen. Spätestens in der achten Laktationswoche war bei der Hälfte der untersuchten Tiere das Gewicht der ersten Laktationswoche wieder erreicht. Ungewöhnlich ist ein erneuter Gewichtsabfall in der neunten Laktationswoche, während in Woche zehn die Gewichte den Ausgangswert wieder überstiegen.

4.1.2 Entwicklung der Milchleistung

In allen Gruppen unterlag die tägliche Milchleistung einer starken Streuung. Bemerkenswert waren Spitzenleistungen von über 50 kg fettkorrigierter Milch (FCM). Diese Werte waren durch einen teilweise außergewöhnlich hohen Fettgehalt bedingt. Abbildung 3 stellt den Verlauf der Laktationskurve bei den Versuchstieren und den Kontrolltieren im Überblick dar.

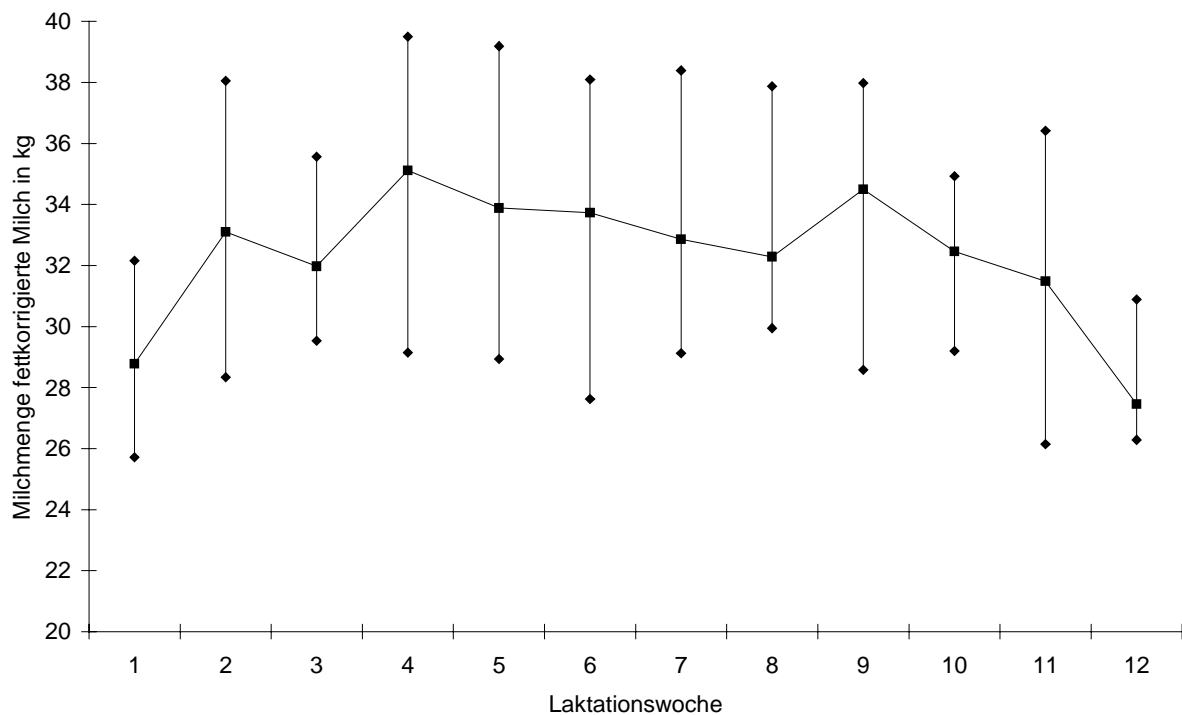


Abbildung 3: Fettkorrigierte Milch aller Tiere in kg (Median, 1. und 3. Quartil)

Der Maximalwert der Mediane wurde in der vierten Woche post partum mit 35,11 kg fettkorrigierter Milch pro Tag erreicht. In der neunten Laktationswoche konnte dieser Wert beinahe wieder (34,50 kg) ermittelt werden. Infolgedessen war in der Milchleistungskurve weniger ein deutlicher Peak ausgeprägt als vielmehr ein Plateau von der vierten bis zur neunten Woche.

4.1.3. Entwicklung der täglichen Futterraufnahme

Bei der Betrachtung der täglichen Trockensubstanzaufnahme fiel auf, daß der höchste Medianwert bei etwa 3,6 % des aktuellen Körpergewichtes der Tiere in allen Gruppen zu finden war.

Der maximale Median wurde in der achten Woche post partum gefunden. Bei der Trockensubstanzaufnahme zeigte sich ein Einbruch in der neunten und zehnten Laktationswoche. Die Werte sinken auf 3,62% beziehungsweise 3,31% des Körpergewichtes. Die Entwicklung der Trockensubstanzaufnahme ist in Abbildung 4 dargestellt.

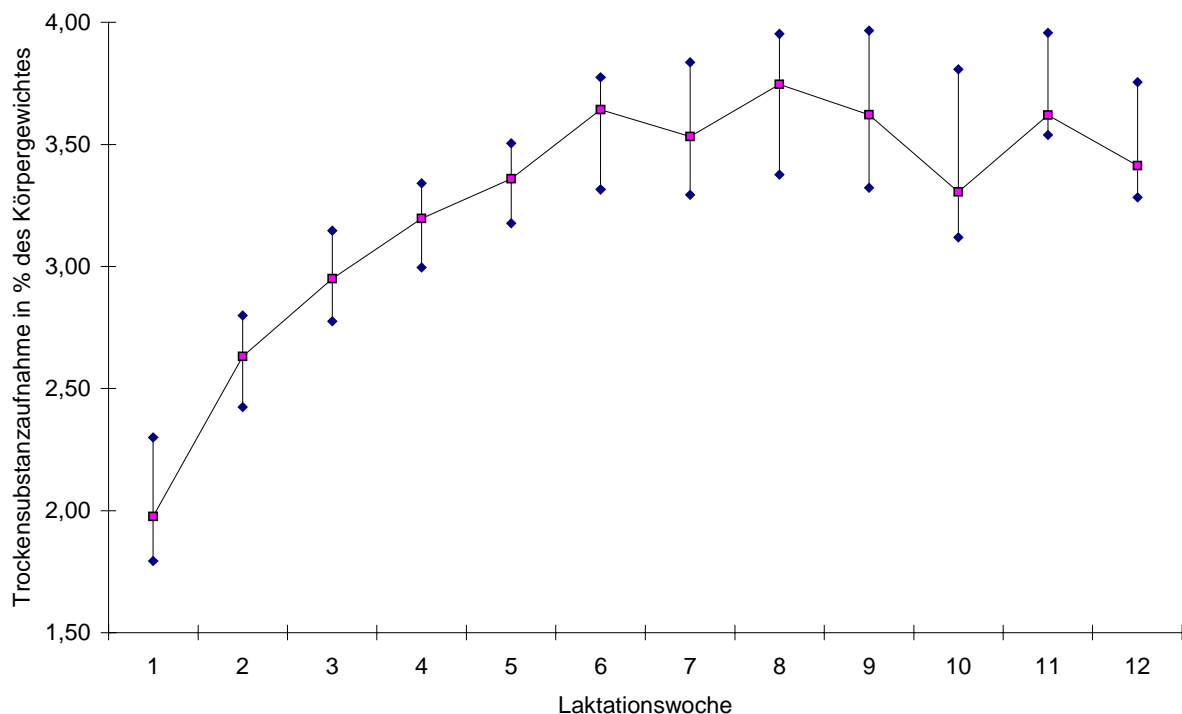


Abbildung 4: Tägliche Trockensubstanzaufnahme in % des Körpergewichtes bei allen Tieren (Median, 1. und 3. Quartil)

Die Kurve zeigt deutlich, daß der Peak der Trockensubstanzaufnahme im Vergleich zur Milchleistung später erreicht wurde. Wir konnten im Vergleich der Färsen mit den Kühen zeigen, daß die Färsen durchweg geringere Trockensubstanzaufnahmen aufwiesen als die Kühe. Die Abbildung 5 zeigt diese Beobachtung.

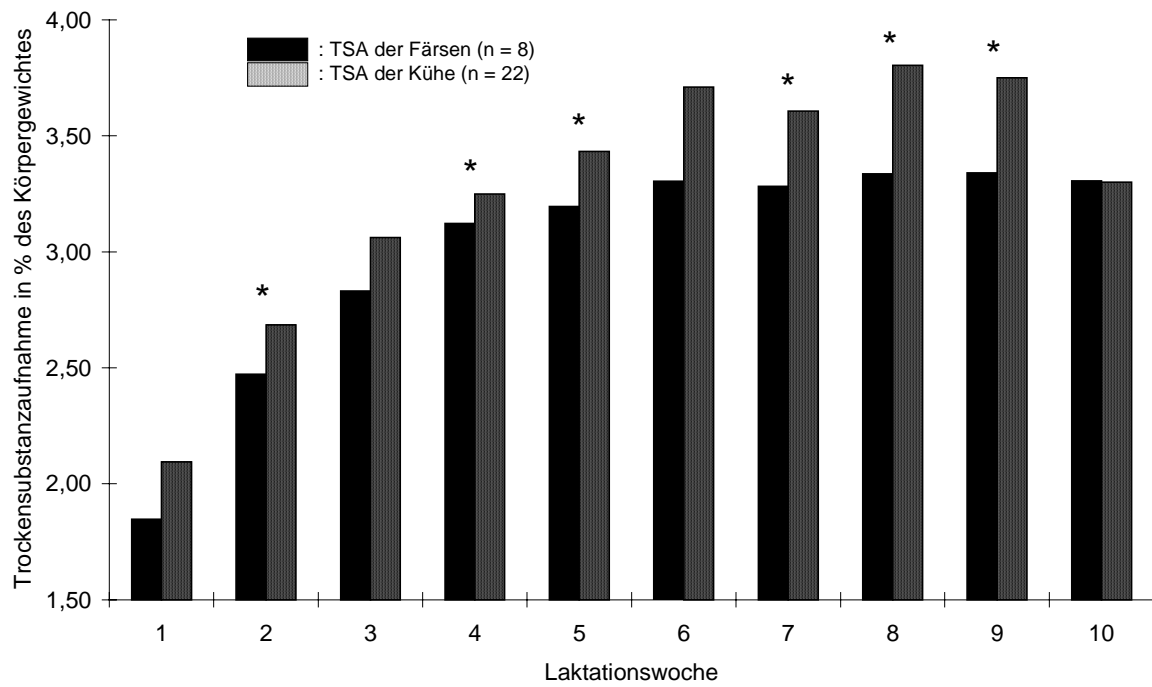


Abbildung 5: Trockensubstanzaufnahme der Färsen und der Kühe in % des Körpergewichtes. (Median); * : $p < 0,05$ nach Mann-Whitney

4.1.4. Entwicklung der Energiebilanz

Die Hälfte der Tiere hatte in der ersten Laktationswoche eine Energiebilanz von mindestens -47,58 MJ NEL/d. Der Mittelwert des Nadir lag bei $-57,08 \pm 19,04$ MJ NEL/d. Der geringste berechnete Nadir betrug -30,75 MJ NEL/d und der am stärksten ausgeprägte Nadir betrug -114,84 MJ NEL/d. Tabelle 12 gibt Auskunft darüber, zu welchem Zeitpunkt der Nadir eingetreten war.

Tabelle 12: Zeitpunkt des Nadir und Anzahl der Tiere

	Laktationswoche			
	1	2	3	4
Anzahl der Tiere	22	4	2	2

Der Verlauf der Energiebilanz aller Tiere ist in Abbildung 6. dargestellt

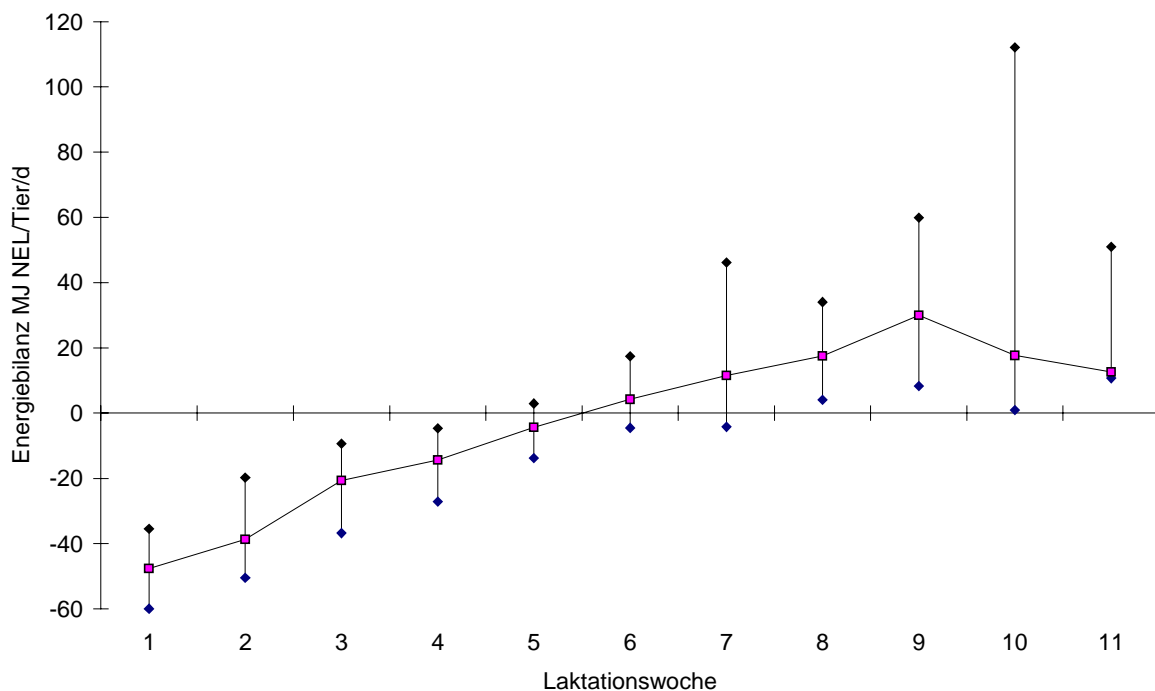


Abbildung 6: Verlauf der Energiebilanz aller Tiere (Median, 1. und 3. Quartil)

Bei dem überwiegenden Teil der Tiere trat eine positive Energiebilanz erstmals in der sechsten Laktationswoche auf. Tabelle 13 stellt die gefundenen Zeiten des Energiebilanzausgleiches für die Versuchs- und Kontrolltiere dar.

Tabelle 13: Zeitpunkt des ersten positiven Energiebilanzwertes und Anzahl der Tiere

	Laktationswoche						
	2	3	4	5	6	7	8
Anzahl der Tiere mit erster positiver EB	1	5	4	4	11	2	3

4.2. LH Reaktion der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Energiebilanz

4.2.1. LH Reaktion der Gruppe 1

Der Modus für die Einteilung der Versuchsgruppen sind in Kapitel 3.1.2 erläutert worden. Die Kühe der Versuchsgruppe 1 wurden zum Zeitpunkt des Nadir mit GnRH behandelt.

Wesentliche Kennzahlen der Versuchsgruppe 1 bezüglich des Verlaufes ihrer Energiebilanz sind in Tabelle 14 wiedergegeben.

Tabelle 14: Kennzahlen des Verlaufes der Energiebilanz bei den Tieren der Versuchsgruppe 1

Parameter	1. Quartil	Median	3. Quartil
Höhe des Nadir (MJ NEL/d)	-59,45	-44,48	-41,85
Zeitpunkt des Nadir (Woche p.p.)	1	1	3
Zeitpunkt der Behandlung (Woche p.p.)	1,5	2	2,5
Energiebilanz zur Zeit der Applikation (MJ/NEL/d)	-53,49	-42,41	-41,61
Differenz zwischen EB des Nadir und EB zur Zeit der Applikation	0	0	1,97
Differenz in % des Nadir	2,5	0	0

Der Nadir wurde in Versuchsgruppe 1 etwas später erreicht als in den übrigen Gruppen und die Applikation von GnRH erfolgte im Durchschnitt in der 2. Woche.

Zur Quantifizierung der Reaktion der Hypophyse auf die GnRH Applikation wurden die Messwerte aus dem LH Assay ab dem Zeitpunkt der Applikation trapezoid aufsummiert. Die so erhaltene Fläche unter der Kurve wurde als Maßzahl der Intensität der LH Reaktion der Hypophyse herangezogen. Das Ergebnis ist für alle sieben Tiere der Gruppe 1 individuell sowie als Mittelwert mit Standardabweichung in Abbildung 7 dargestellt.

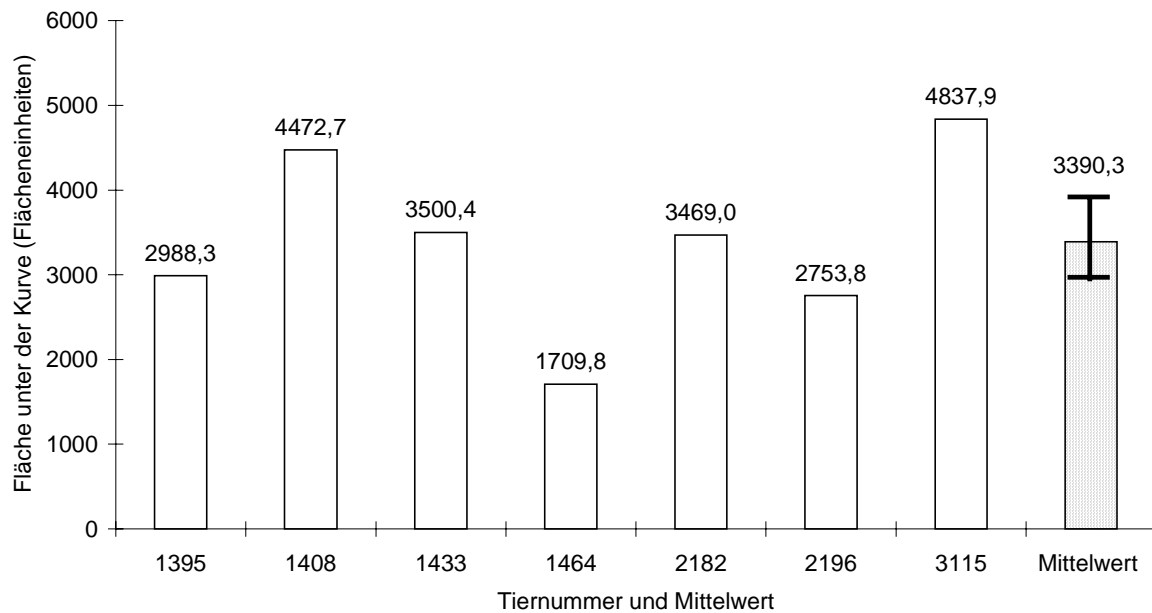


Abbildung 7: Trapezoide Summation der LH Werte der sieben Versuchstiere in Gruppe 1 (Flächeneinheiten)

Die Werte lagen im Mittel bei 3390,3 Flächeneinheiten mit einer Standardabweichung von 1054 Flächeneinheiten. Im Durchschnitt wurde der Peak der gemessenen LH Werte 111 Minuten nach der Applikation erreicht. Die Höchswerte der LH Konzentration schwankten zwischen 15,04 ng/ml und 60,49 ng/ml. Im Mittel lagen sie bei 32,37 ng/ml mit einer Standardabweichung von 15,08 ng/ml.

4.2.2. LH Reaktion der Gruppe 2

Die Kühe der Versuchsgruppe 2 wurden nach Ausgleich des ersten Drittels der negativen Energiebilanz mit GnRH behandelt. Die Kennzahlen dieser Gruppe sind in Tabelle 15 wiedergegeben. Auffallend ist, daß der Nadir in dieser Gruppe eher zu beobachten war als in der Versuchsgruppe 1.

Tabelle 15: Kennzahlen des Verlaufes der Energiebilanz bei den Tieren der Versuchsgruppe 2

Parameter	1. Quartil	Median	3. Quartil
Höhe des Nadir (MJ NEL/d)	-59,24	-54,93	-51,94
Zeitpunkt des Nadir (Woche p.p.)	1	1	1
Zeitpunkt der Behandlung (Woche p.p.)	2	2	2
Energiebilanz zur Zeit der Applikation (MJ/NEL/d)	-42,62	-35,41	-31,69
Differenz zwischen EB des Nadir und EB zur Zeit der Applikation	12,65	18,20	22,03
Differenz in % des Nadir	39,75	32,50	20,75

Bei der Darstellung der LH Reaktion der Gruppe 2 in Abbildung 8 fällt auf, daß die Werte mit Ausnahme von einem Tier sehr homogen waren. Die Höchstwerte lagen im Bereich zwischen 3,86 ng/ml und 23,22 ng/ml. Die Zeit bis zum Peak betrug in Gruppe 2 zwischen 60 Minuten und 140 Minuten, im Durchschnitt 110 Minuten mit einer Standardabweichung von 30 Minuten.

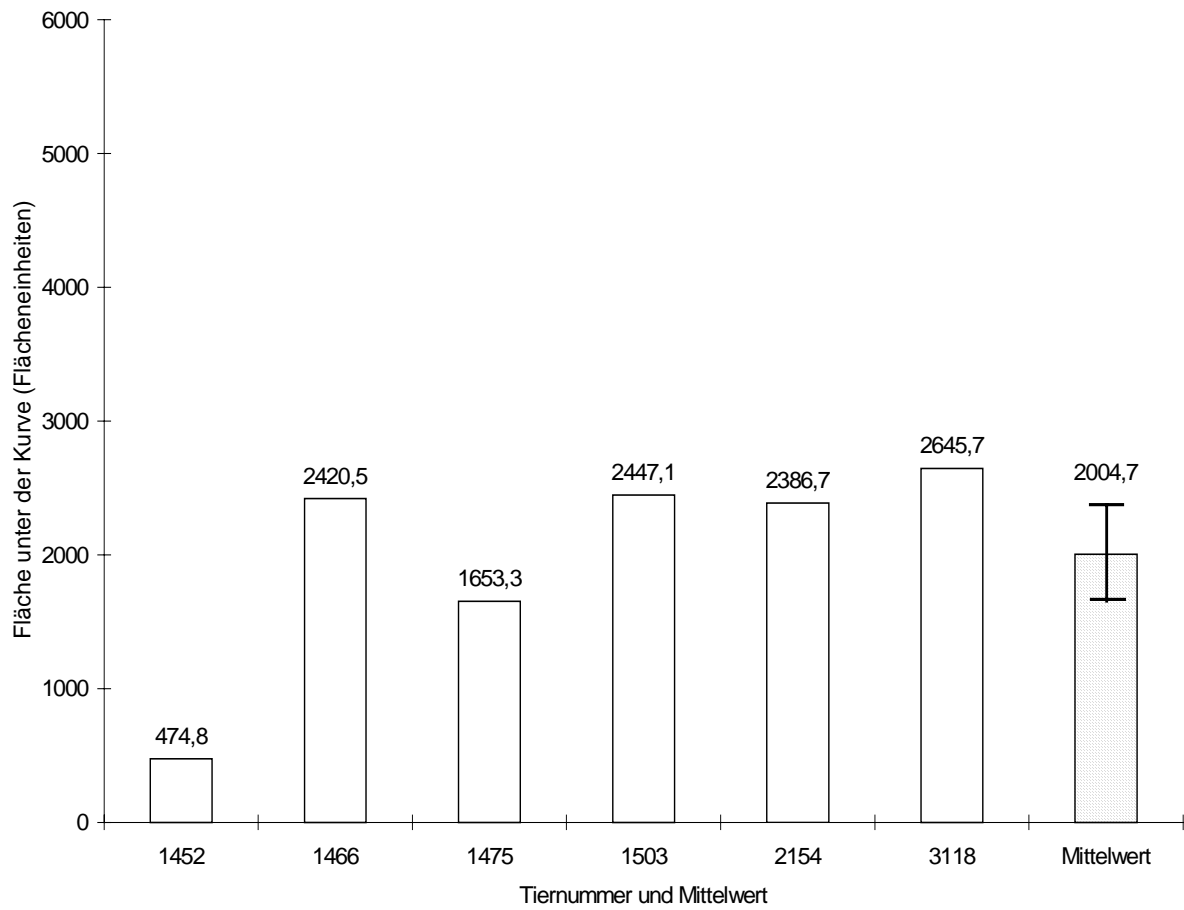


Abbildung 8: Trapezoide Summation der LH Werte der sechs Versuchstiere in Gruppe 2 (Flächeneinheiten)

4.2.3. LH Reaktion der Gruppe 3

Die Kühe der Versuchsgruppe 3 wurden zu einem Zeitpunkt mit GnRH behandelt, als zwei Drittel des Maximalwertes der negativen Energiebilanz wieder abgebaut waren. Der Nadir trat in dieser Gruppe durchschnittlich in der zweiten Woche post partum ein, die Behandlung wurde in der dritten bis vierten Woche post partum durchgeführt. Der Median des Nadir lag mit -52,04 MJ NEL/d in etwa in der gleichen Größenordnung wie in Versuchsgruppe 1 und 2. Die Werte sind in Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 16: Kennzahlen des Verlaufes der Energiebilanz bei den Tieren der Versuchsgruppe 3

Parameter	1. Quartil	Median	3. Quartil
Höhe des Nadir (MJ NEL/d)	-70,54	-52,04	-35,52
Zeitpunkt des Nadir (Woche p.p.)	1	1	1,75
Zeitpunkt der Behandlung (Woche p.p.)	3	4	4
Energiebilanz zur Zeit der Applikation (MJ/NEL/d)	-19,80	-14,81	-0,30
Differenz zwischen EB des Nadir und EB zur Zeit der Applikation	26,61	41,98	53,66
Differenz in % des Nadir	98,00	66,00	58,25

Die LH Reaktion der Kühe der Versuchsgruppe 3 zeigt einen Extremwert mit einer LH Reaktion, die dem doppelten Durchschnittswert dieser Gruppe entspricht. Die übrigen Tiere reagierten annähernd homogen. Es dauerte 60 bis 160 Minuten bis der Höchstwert erreicht

wurde. Im Durchschnitt dauerte dies 102 Minuten bei einer Standardabweichung von 27,5 Minuten. Die Peaks lagen bei $18,77 \hat{=} 11,39$ ng/ml. Die grafische Darstellung der LH Reaktionen der Tiere aus Versuchsgruppe 3 findet sich in Abbildung 9

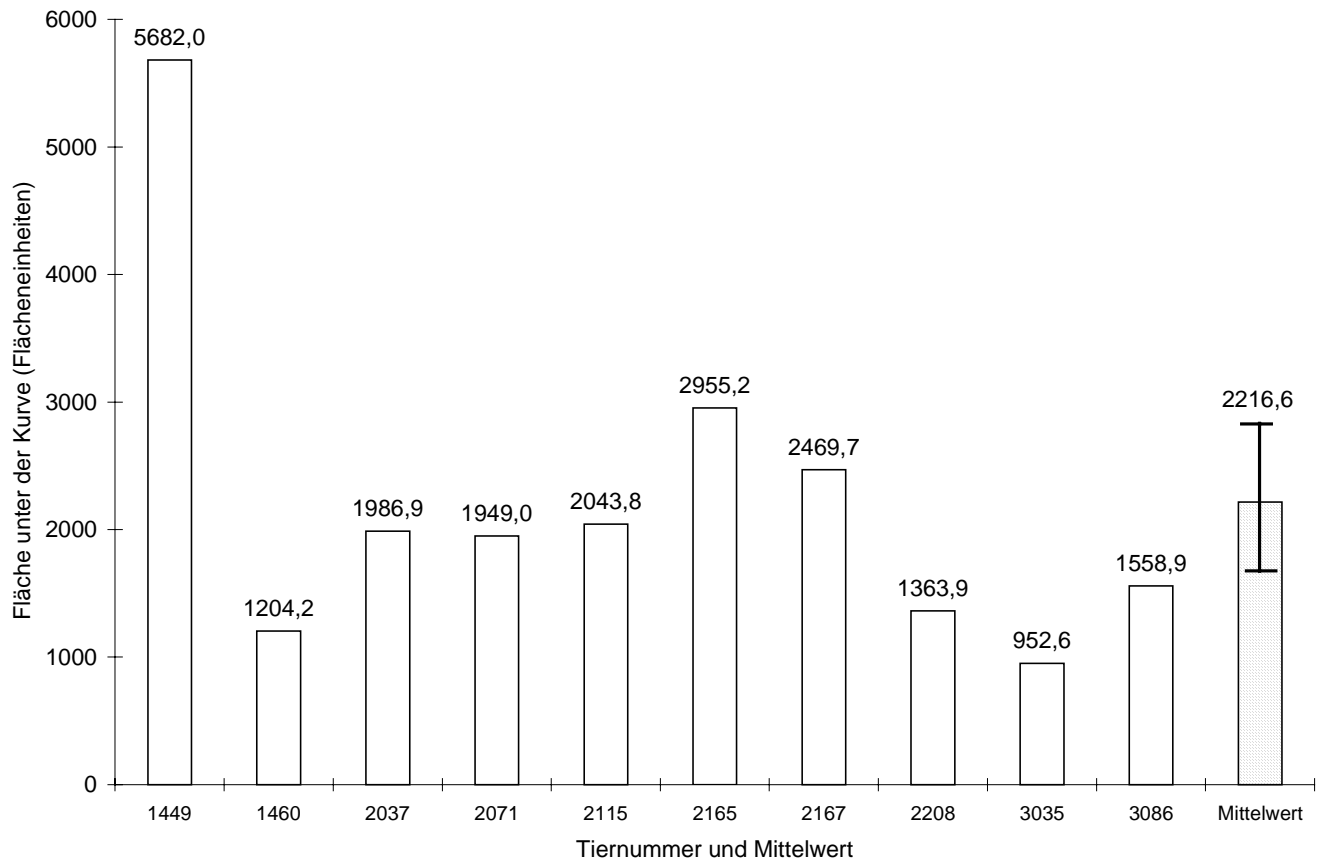


Abbildung 9: Trapezoide Summation der LH Werte der zehn Versuchstiere in Gruppe 3 (Flächeneinheiten)

4.2.4. LH Reaktion der Kontrollgruppe

Den Tieren der Kontrollgruppe wurden zu unterschiedlichen Energiebilanzstadien anstatt GnRH die gleiche Menge (5 ml) physiologische Kochsalzlösung appliziert. Aus Gruppe 4 hatten drei Tiere 0-33% ihres negativen Maximalwertes der Energiebilanz ausgeglichen, drei Tiere hatten 33-66% ausgeglichen und ein Tier hatte einen Ausgleichsgrad von über 66%. Tabelle 17 verdeutlicht die Charakteristika der Kontrollgruppe bezüglich des Energiebilanzstadiums.

Tabelle 17: Kennzahlen des Verlaufes der Energiebilanz bei den Tieren der Kontrollgruppe

Parameter	1. Quartil	Median	3. Quartil
Höhe des Nadir (MJ NEL/d)	-75,82	-58,79	-49,60
Zeitpunkt des Nadir (Woche p.p.)	1	1	1,5
Zeitpunkt der Behandlung (Woche p.p.)	2	2	3,5
Energiebilanz zur Zeit der Applikation (MJ/NEL/d)	-53,62	-44,20	-24,93
Differenz zwischen EB des Nadir und EB zur Zeit der Applikation	12,98	20,36	23,93
Differenz in % des Nadir	50,00	26,00	14,00

Eine LH Reaktion der Kontrollgruppe war erwartungsgemäß nicht zu beobachten. Die Werte der Fläche unter der Kurve streuten von minimal 66,02 bis maximal 342,72 Flächeneinheiten.

Der Mittelwert betrug $141,5 \pm 93,60$ Flächeneinheiten. Die gemessenen Höchstwerte lagen zwischen 0,78 ng/ml und 2,20 ng/ml.

Zusammenfassend sind die Ergebnisse der LH-Messungen in Abbildung 10 dargestellt.

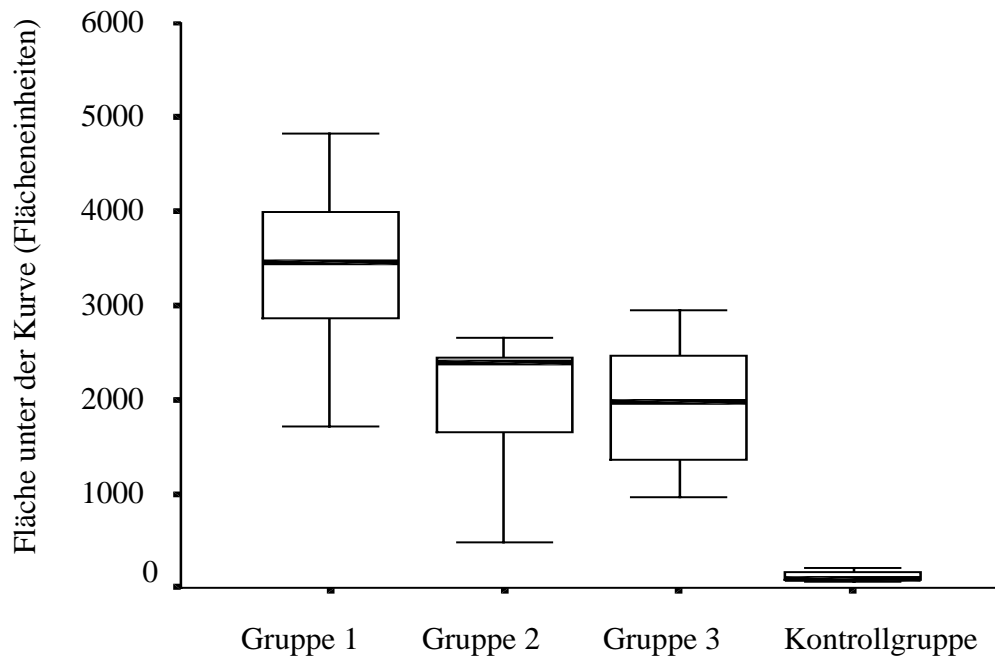


Abbildung 10: Reaktion der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe auf GnRH (Fläche unter der Kurve)

Paarweise Vergleiche der Gruppen mit Hilfe des U-Tests nach Mann und Whitney zeigten, daß sich alle Versuchsgruppen signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden. Gruppe 1 unterschied sich von Gruppe 2 und Gruppe 3 signifikant ($p < 0,05$). Gruppe 2 und Gruppe 3 wichen nicht signifikant voneinander ab. Tabelle 18 gibt die Ergebnisse der Mann und Whitney Tests für die Vergleiche der Gruppen wieder.

Tabelle 18: Ergebnisse der paarweisen Vergleiche der Gruppen mit Hilfe des U-Tests nach Mann und Whitney

Vergleich der Gruppen	Überschreitungswahrscheinlichkeit
Gruppe 1 vs Gruppe 2	$p=0,014$
Gruppe 1 vs Gruppe 3	$p=0,032$
Gruppe 1 vs Gruppe 4	$p=0,002$
Gruppe 2 vs Gruppe 3	$p=0,745$
Gruppe 2 vs Gruppe 4	$p=0,03$
Gruppe 3 vs Gruppe 4	$p=0,01$

4.3. Nettoenergiebilanz und indirekte Parameter

4.3.1. Nettoenergiebilanz und BCS Werte

Eines der Untersuchungsziele war es, verschiedene indirekte Parameter zur Verfolgung des Energiebilanzverlaufes zu validieren.

Die berechneten Werte der Energiebilanz (Mittelwerte und Standardabweichungen) und der Körperkondition der Tiere (Mittelwerte und Standardabweichungen) sind in Tabelle 19 dargestellt. Um die Werte der Energiebilanz zu standardisieren wurde für jedes Tier der individuelle Nadir gleich 100% gesetzt. Für jedes Tier wurde in jeder Laktationswoche berechnet, zu welchem Prozentsatz der Wert des Nadir wieder ausgeglichen war. Wie in Tabelle 19 zu erkennen ist, war bei der Hälfte der Tiere zwischen Woche 5 und 6 die Energiebilanz wieder vollständig ausgeglichen.

Tabelle 19: Energiebilanz (absolut in MJ NEL/d, Mittelwerte und in % vom Nadir) und Mittelwerte und Standardabweichungen der Körperkonditionsnoten (BCS)

Laktationswoche	Energiebilanz MJ NEL/d $\bar{x} \pm SD$	Energiebilanzausgleich in % des Nadirwertes Median	BCS Werte $\bar{x} \pm SD$
1	-49,41 ± 19,48	0,00	3,55±0,16
2	-39,36 ± 24,61	18,84	3,47±0,15
3	-24,31 ± 23,02	56,99	3,46±0,15
4	-19,93 ± 25,37	70,62	3,45±0,12
5	-7,58 ± 17,62	91,06	3,43±0,11
6	8,67 ± 19,56	107,89	3,43±0,13
7	32,95 ± 53,19	118,56	3,41±0,16
8	30,74 ± 42,93	128,81	3,40±0,19
9	44,29 ± 70,39	148,42	3,41±0,18
10	47,43 ± 87,81	97,80	3,44±0,18
11	19,47 ± 67,45	165,60	3,41±0,18

Um zu veranschaulichen, wie der Kurvenverlauf zwischen der Energiebilanz und Körperkondition korrelierte, wurde in Abbildung 11 und Abbildung 12 die Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen gewählt.

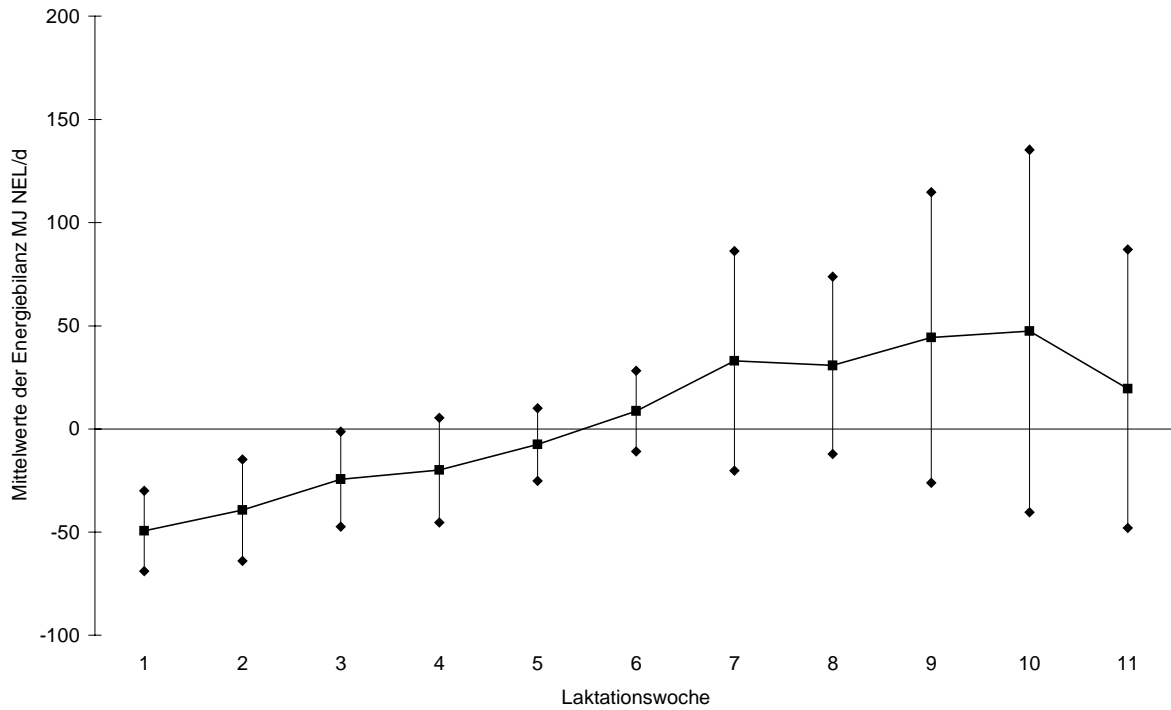


Abbildung 11: Darstellung der Energiebilanzen aus den Mittelwerten und Standardabweichungen

Die Veränderung der Körperkonditionswerte zeigte einen andersartigen Verlauf, wie in Abbildung 12 dargestellt ist.

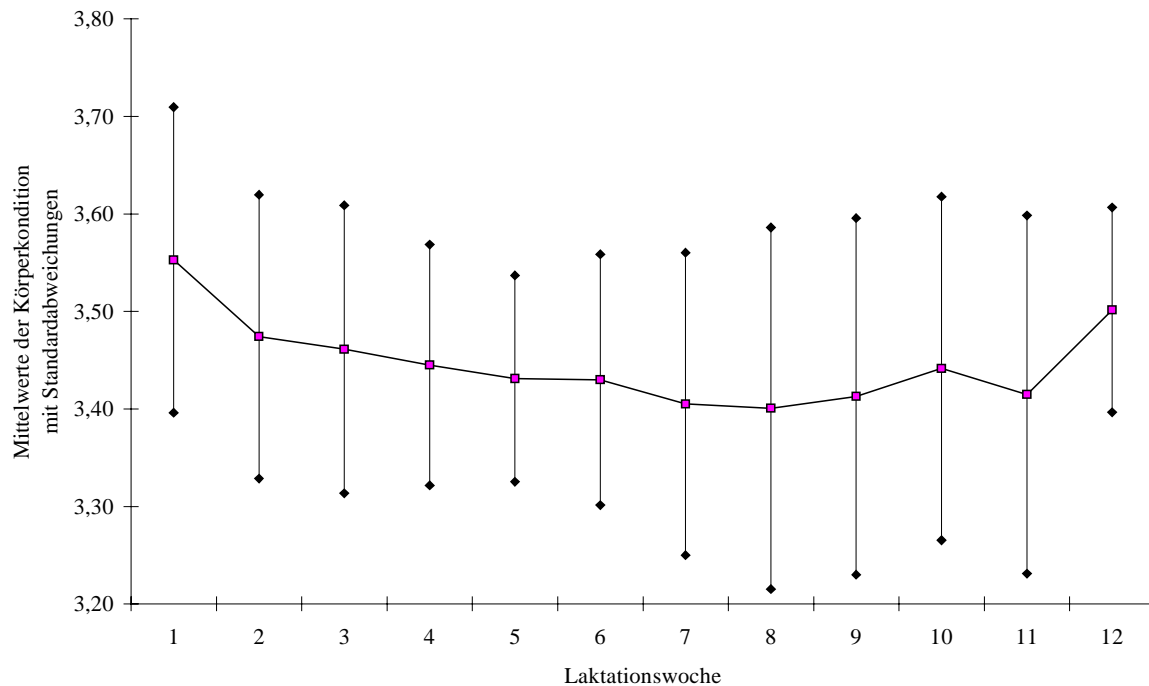


Abbildung 12: Darstellung der BCS Werte aus den Mittelwerten und Standardabweichungen

4.3.2. Nettoenergiebilanz und Messung der Rückenfettdicke (RFD)

Bei den Ergebnissen der Messung der Rückenfettdicke ist zu beachten, daß nur Messungen in der ersten, der zweiten, der vierten und der achten Woche berücksichtigt wurden. Die Werte verringerten sich kontinuierlich zur achten Woche hin, wie in Tabelle 20 deutlich wird.

Tabelle 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der Rückenfettdicke und Energiebilanz in % des Maximalwertes

Laktationswoche	Energiebilanzausgleich in % des Nadirwertes Median	RFD in mm $\bar{x} \pm SD$
1	0,00	22,73±5,09
2	18,84	19,90±5,34
4	70,62	16,57±4,40
8	128,81	13,03±3,71

Abbildung 13 zeigt die Entwicklung grafisch.

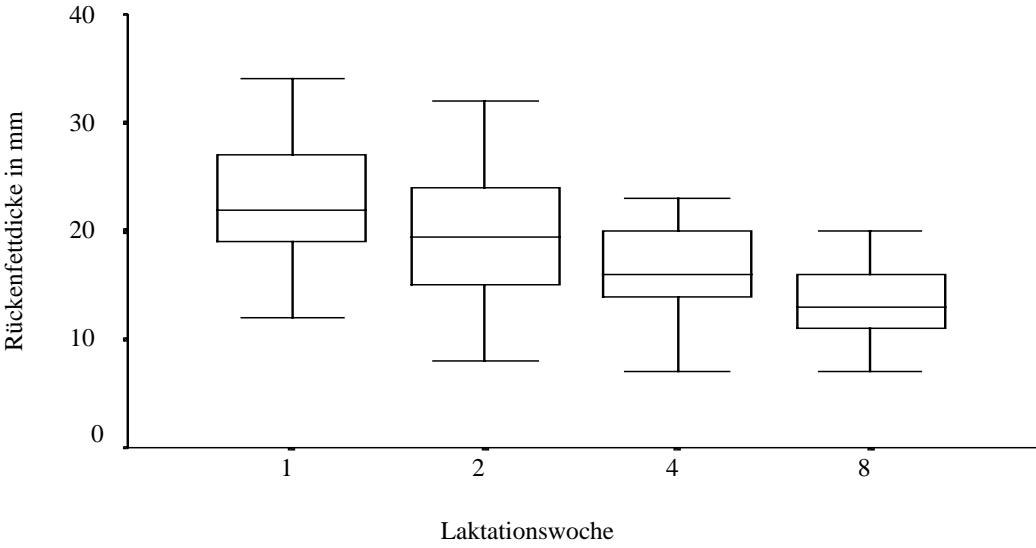


Abbildung 13: Darstellung der Rückenfettdicken

4.3.3. Nettoenergiebilanz und Phosphoenolpyruvat (PEP) in der Milch

Um den Zusammenhang des Milchgehaltes an Phosphoenolpyruvat und der Energiebilanz der Tiere zu veranschaulichen, wurde in Tabelle 21 die PEP Konzentration und der prozentuale Ausgleich der Energiebilanz vom Nadir dargestellt.

Tabelle 21: PEP Konzentration in der Milch mit Mittelwerten und Standardabweichungen.
Energiebilanz in % des Maximalwertes

Laktationswoche	PEP in mg/kg $\bar{x} \pm SD$	Energiebilanzausgleiches in % des Nadirwertes Median
1	-	0,00
2	12,01±6,42	18,84
3	12,41±6,03	56,99
4	11,28±4,80	70,62
5	11,45±4,79	91,06
6	10,87±4,77	107,89
7	9,34±4,34	118,56
8	8,93±3,77	128,81
9	8,41±3,97	148,42
10	6,35±2,97	97,80
11	6,16±2,84	165,60

Es wird deutlich, daß mit fortschreitender Laktation der Gehalt an PEP in der Milch abnahm.

Die Streuung der PEP Konzentrationen wurde ebenfalls kleiner.

Die Kurve in Abbildung 14 stellt den Verlauf des Gehaltes von PEP in der Milch in den ersten 12 Laktationswochen dar.

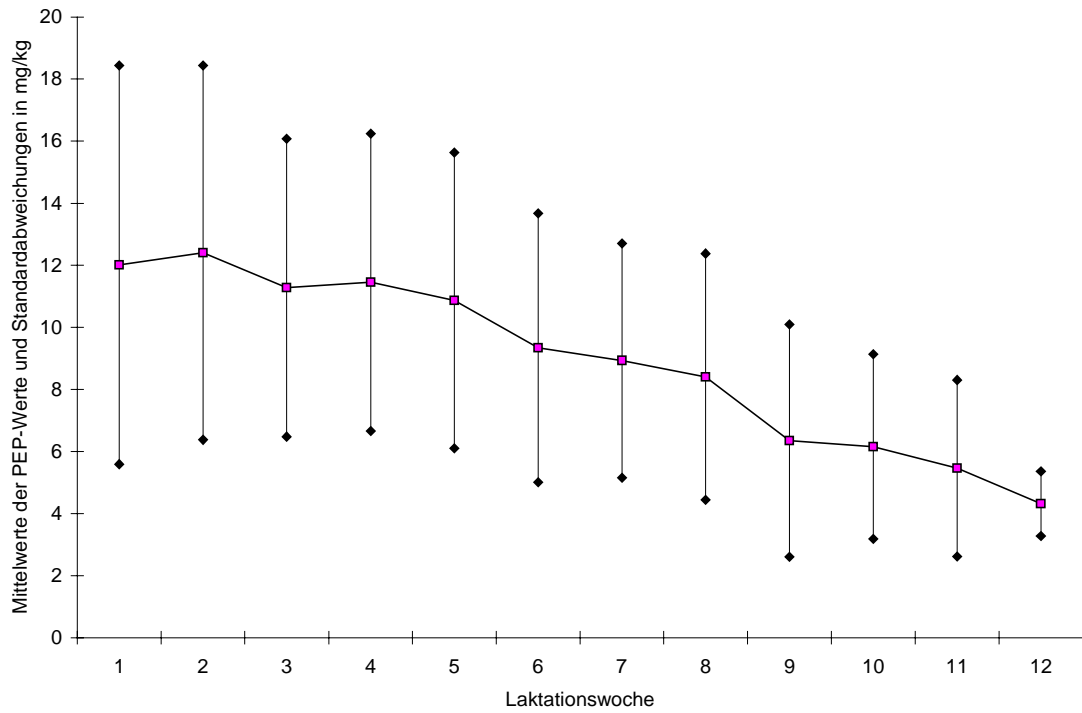


Abbildung 14: Darstellung der PEP Konzentration in der Milch in den ersten Laktationswochen mit Mittelwerten und Standardabweichungen (mg/kg)

4.3.4. Nettoenergiebilanz und Betahydroxybutyrat (BHB) in der Milch

Die Konzentration von BHB in der Milch stieg im Verlauf der ersten elf Wochen sukzessive an. Die Standardabweichungen vergrößerten sich ebenfalls mit fortschreitender Laktation. In Tabelle 22 ist die Entwicklung der BHB Konzentrationen im Vergleich mit der Entwicklung der Energiebilanz dargestellt.

Tabelle 22: BHB Konzentration in der Milch mit Mittelwerten und Standardabweichungen und Energiebilanz in % des Maximalwertes

Laktationswoche	BHB in mg/kg $\bar{x} \pm SD$	Energiebilanzausgleich in % des Nadirwertes Median
1	-	0,00
2	4,42±2,21	18,84
3	3,68±1,71	56,99
4	4,65±2,06	70,62
5	5,27±4,32	91,06
6	5,80±4,67	107,89
7	4,82±2,90	118,56
8	4,60±2,11	128,81
9	6,07±7,81	148,42
10	6,69±7,07	97,80
11	6,25±7,18	165,60

In Abbildung 15 wurde die Kurve der BHB Konzentrationen der Milch in den ersten elf Laktationswochen dargestellt. Die Schwankung der Werte nahm mit fortschreitender Laktation zu.

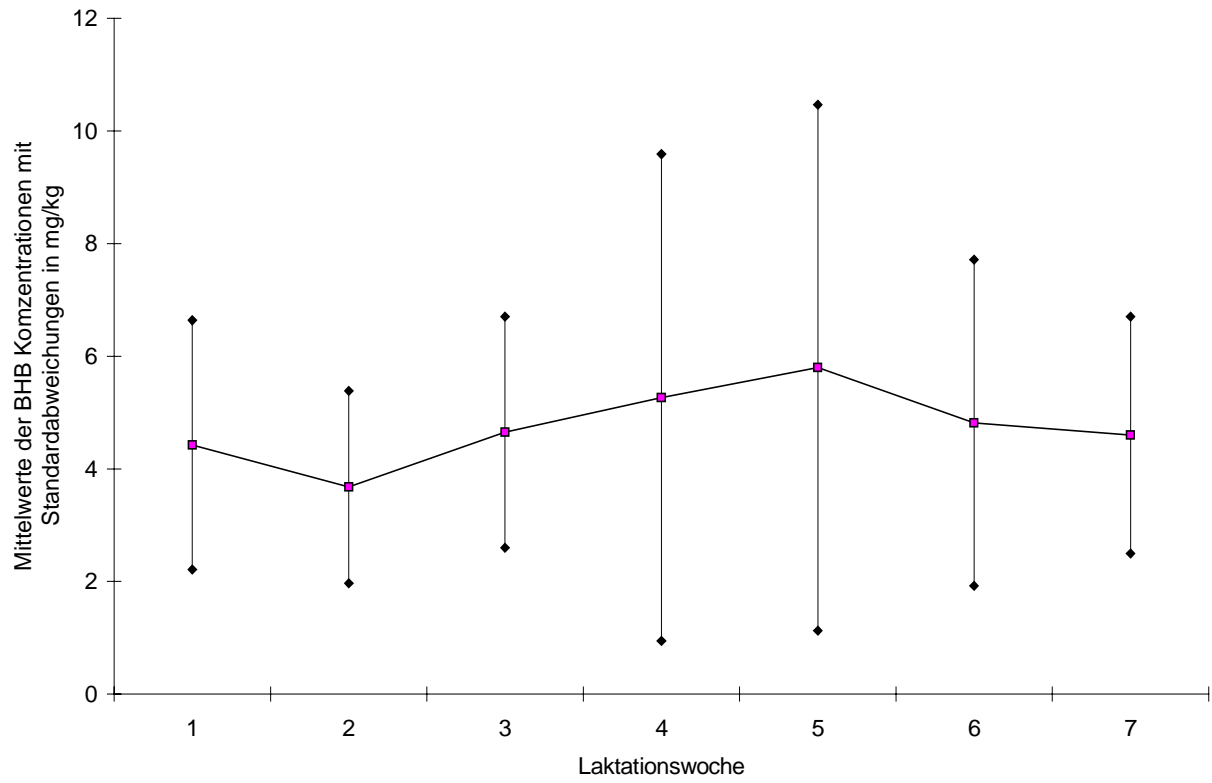


Abbildung 15: BHB Konzentrationen in der Milch mit Mittelwerten und Standardabweichungen (mg/kg)

4.3.5. Nettoenergiebilanz und Acetoacetat (AA) in Milch

Die Acetoacetat Konzentrationen in der Milch waren in unserem Versuch nur geringen Schwankungen unterworfen. Tabelle 23 gibt einen Überblick über die AA Werte.

Tabelle 23: Acetoacetat Konzentrationen in der Milch mit Mittelwerten und Standardabweichungen und Energiebilanz in % des Maximalwertes

Laktationswoche	AA in mg/kg $\bar{x} \pm SD$	Energiebilanzausgleich in % des Nadirwertes Median
1	-	0,00
2	1,49±0,31	18,84
3	1,51±0,05	56,99
4	1,54±0,16	70,62
5	1,60±0,27	91,06
6	1,60±0,40	107,89
7	1,55±0,29	118,56
8	1,52±0,08	128,81
9	1,60±0,51	148,42
10	1,64±0,87	97,80
11	1,69±0,75	165,60

Die Acetoacetat Konzentrationen in der Milch sind in Abbildung 16 als Kurve dargestellt.

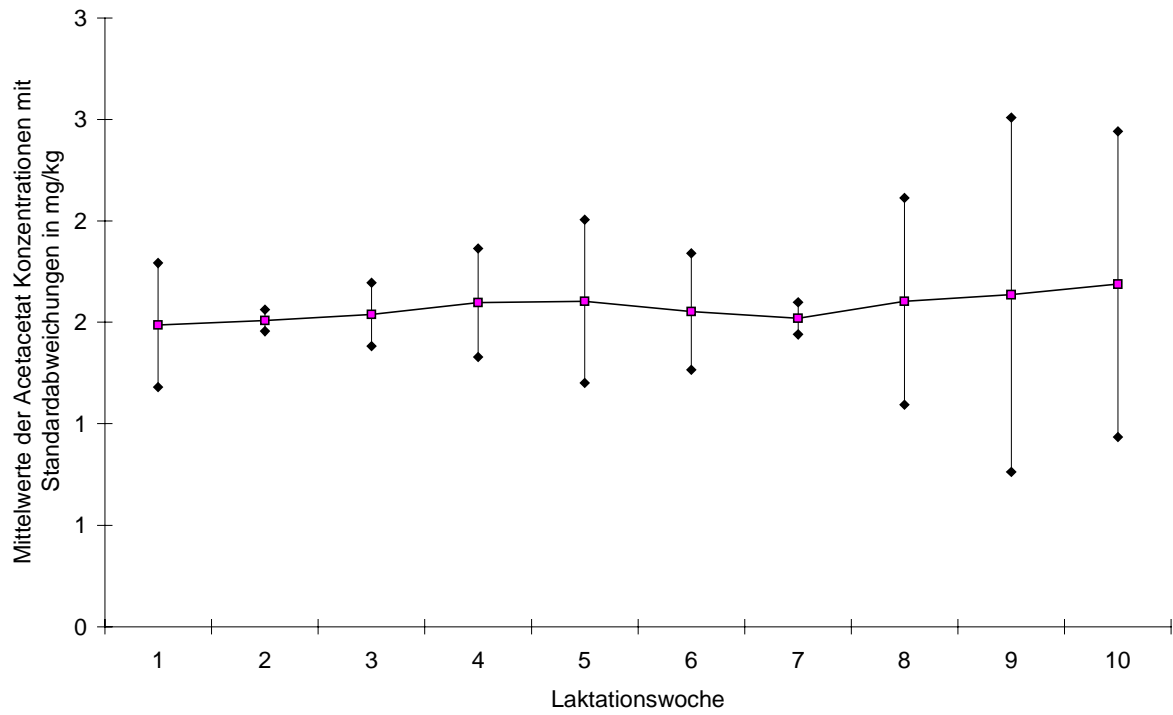


Abbildung 16: Acetoacetat Konzentrationen in der Milch mit Mittelwerten und Standardabweichungen (mg/kg)

4.3.6. Nettoenergiebilanz und Verlauf der Lebendmasseentwicklung (LM)

Die Entwicklung der Lebendmasse unterlag starken Schwankungen. Das Gewicht lag zu Beginn der Laktation zwischen 488 kg bis 685 kg, da in die Untersuchung auch Erstkalbinnen einbezogen waren. Um den Verlauf der Gewichtsentwicklung zu charakterisieren, wurden in Tabelle 24 die Ab- bzw Zunahmen der Tiere in Bezug zum Gewicht in der ersten Laktationswoche im Vergleich zur Energiebilanz in der Spalte daneben dargestellt.

Tabelle 24: Entwicklung des Körpergewichtes mit Mittelwerten und Standardabweichungen. Energiebilanz in % des Maximalwertes

Laktationswoche	Körpergewicht in kg im Bezug zum Erstwert in der ersten Laktationswoche $\bar{x} \pm SD$	Energiebilanzausgleich in % des Nadirwertes Median
1	0,00	0,00
2	-9,60±16,12	18,84
3	-8,30±14,58	56,99
4	-8,90±17,22	70,62
5	-6,66±15,92	91,06
6	-6,38±20,65	107,89
7	-4,57±18,03	118,56
8	-2,86±21,95	128,81
9	-6,53±22,49	148,42
10	-8,75±32,05	97,80
11	1,40±30,39	165,60

Die Tiere wogen durchschnittlich erst in der elften Woche nach der Geburt wieder mehr als zu Beginn der Laktation. Die Kurve zu der Lebendmasseentwicklung ist in Abbildung 17 dargestellt. Wir konnten feststellen, daß leichtere Tiere mit einem Startgewicht von bis 588 kg (n = 11) in den ersten achten Laktationswochen mehr Körpermasse verloren als Tiere mit

einem Startgewicht von 588 kg bis 685 kg (n = 19). Der kumulierte Medianwert der Gewichtsverluste in Kilogramm für die ersten acht Laktationswochen liegt bei den leichten Tieren bei 96 kg, bei den schweren Tieren nur bei 30 kg Körpermasse

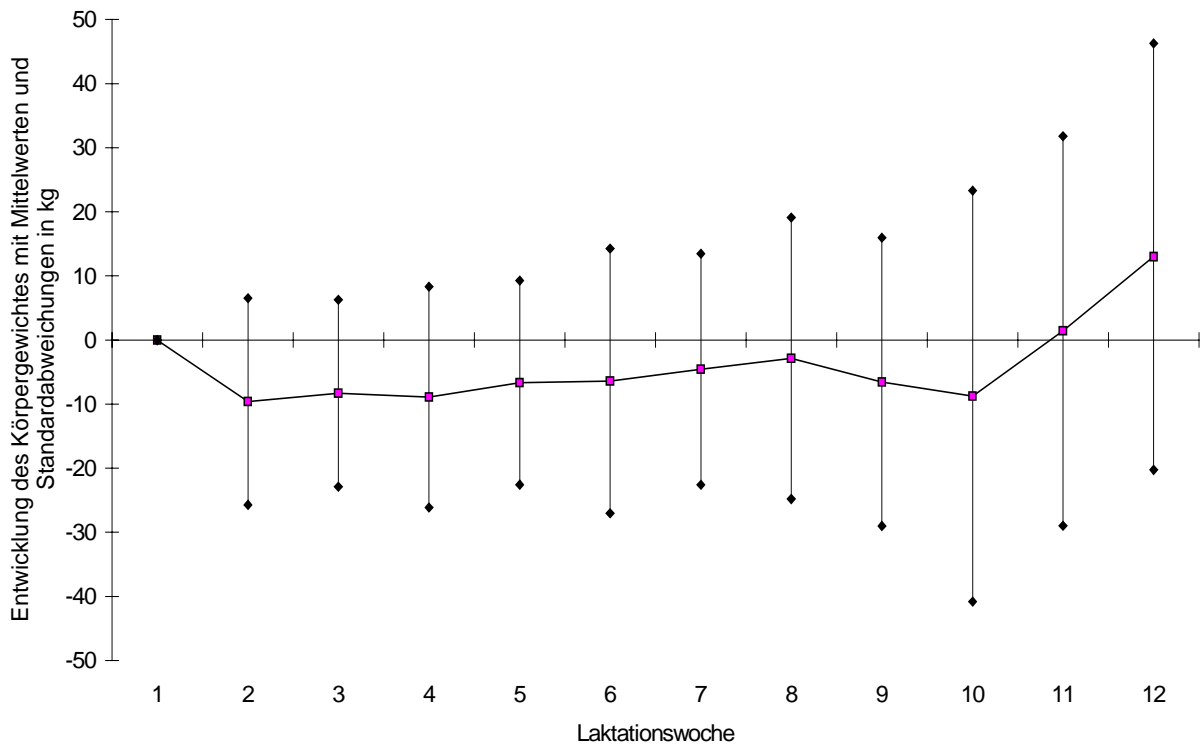


Abbildung 17: Entwicklung des Körpergewichtes mit Mittelwerten und Standardabweichungen (kg)

Ziel der Untersuchung war es, bestehende Zusammenhänge zwischen dem Verlauf der berechneten Energiebilanz und dem Verlauf der indirekten Parameter darzulegen. Bei der Verlaufskontrolle steht weniger der Absolutwert im Mittelpunkt der Betrachtung, als vielmehr die Veränderung der Werte mit fortschreitender Laktation. Deshalb wurden für die berechnete Energiebilanz und die indirekten Parameter die Differenzen der jeweiligen Werte in den einzelnen Laktationswochen zu den Werten in der ersten Laktationswoche gebildet. Für die sich so ergebenden Veränderungen wurden die Korrelationen berechnet und in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 25: Pearson Korrelationen (r) der indirekten Parameter der Energiebilanz zur berechneten Energiebilanz mit angegebener Irrtumswahrscheinlichkeit (p) in den Laktationswochen 2 bis 9

Laktations- woche	EB-BCS	EB-RFD	EB-PEP	EB-BHB	EB-AA	EB-LM
2	r = -0,09 p > 0,1	r = 0,11 p > 0,1	-	-	-	r = -0,11 p > 0,1
3	r = 0,14 p > 0,1	-	r = 0,20 p > 0,1	r = -0,09 p > 0,1	r = -0,03 p > 0,1	r = 0,07 p > 0,1
4	r = 0,19 p > 0,1	r = 0,24 p > 0,1	r = 0,09 p > 0,1	r = -0,29 p > 0,1	r = -0,12 p > 0,1	r = 0,17 p > 0,1
5	r = 0,16 p > 0,1	-	r = -0,07 p > 0,1	r = 0,07 p > 0,1	r = -0,03 p > 0,1	r = 0,36 p > 0,05
6	r = -0,09 p > 0,1	-	r = -0,27 p > 0,1	r = -0,25 p > 0,1	r = -0,19 p > 0,1	r = 0,05 p > 0,1
7	r = -0,29 p > 0,1	-	r = -0,28 p > 0,1	r = -0,36 p > 0,05	r = -0,23 p > 0,1	r = -0,12 p > 0,1
8	r = -0,029 p > 0,1	r = -0,17 p > 0,1	r = -0,26 p > 0,1	r = 0,24 p > 0,1	r = 0,25 p > 0,1	r = -0,34 p > 0,1

In den vorliegenden Daten sind keine linearen Zusammenhänge zwischen den erhobenen indirekten Parametern und der berechneten Energiebilanz zu erkennen.

5. Diskussion

5.1. Entwicklung der Stoffwechselfparameter

5.1.1. Entwicklung des Körpergewichtes

Die Ergebnisse der Gewichtsentwicklung sind in Kapitel 4.1.1. dargestellt. Der Verlauf der Körpergewichtsentwicklung ist eine Maßzahl des Körperfett- und Körperproteingehaltes (Gresham et al. 1986). Die mittlere Körpermasse der Versuchstiere lag bei $600 \text{ kg} \pm 56 \text{ kg}$. Maximal wurde eine Körpermasse von 685 kg zu Beginn der Laktation und minimal ein Wert von 488 kg ermittelt. Die Körpermasse ist nicht nur vom Fett- und Proteingehalt des Organismus abhängig, sondern wird auch von dem Füllungszustand des Verdauungstraktes bestimmt. Es ist deshalb mit einer physiologisch auftretenden starken Schwankung des Körpergewichtes unabhängig von der Stoffwechsellage der Tier auszugehen (Maltz et al. 1997). In dem vorliegenden Versuch wird diese Auffassung bestätigt. Es wurde in Laktationswoche zwei bis acht im Mittel pro Woche $6,8 \pm 2,2 \text{ kg}$ weniger Körpermasse gemessen als in der Woche der Geburt. Allerdings waren in jeder Woche post partum einzelne Tiere zu finden, die an Gewicht zugenommen hatten. In der Versuchsanordnung wurde darauf geachtet, daß die Körpergewichtsermittlung in regelmäßigen Abständen zur gleichen Tageszeit (jeden Donnerstag, unmittelbar nach dem abendlichem Milchentzug) durchgeführt wurde. Es ist belegt, daß die Wasseraufnahme der Milchkühe direkt mit der Milchleistung und der Trockensubstanzaufnahme korreliert ist (Holter und Urban 1992).

5.1.2. Entwicklung der Milchleistungskurve

Die Milchleistungsergebnisse der Versuchstiere sind in Kapitel 4.1.2. zusammengefaßt. Die Ergebnisse zeigen im Median einen Peak in der vierten Laktationswoche. Dieser Wert wurde in der neunten Laktationswoche erneut annähernd erreicht. Die Höchstwerte und der Zeitpunkt ihres Eintretens stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten in etwa überein (Baumann und Currie 1980, Butler und Elrod 1992, Senatore et al. 1996).

5.1.3. Entwicklung der Trockensubstanzaufnahme

Zum Vergleich der Trockensubstanzaufnahmen wurde die täglich konsumierte Trockensubstanz in Relation zum Körpergewicht der Kühe gesetzt. Die Höchstwerte der Trockensubstanzaufnahme werden im Schrifttum mit 3,7 % des Körpergewichtes in der zehnten Laktationswoche (Staples et al. 1990) beziehungsweise 4,5 % des Körpergewichtes in der siebten bis zehnten Laktationswoche (Harrison et al. 1990) angegeben. Die höchsten Medianwerte in der vorliegenden Untersuchung wurden in der achten Laktationswoche mit 3,75 % des Körpergewichtes ermittelt und entsprachen somit den Werten des Schrifttums.

5.1.4. Verlauf der Energiebilanz

Die Verläufe der Energiebilanz sind in Kapitel 4.1.4. beschrieben. Die absoluten Werte des Nadir stimmten mit durchschnittlich $-57,1 \text{ MJ NEL} \pm 19,1 \text{ MJ NEL}$ mit den Literaturangaben weitgehend überein (Canfield und Butler 1990, Senatore et al. 1996). Butler und Smith (1989) gaben als Zeitpunkt für das Eintreten des Nadir die ersten beiden Wochen an. Canfield und Butler (1990) fanden den Nadir etwa am elften Tag post partum. Canfield et al. (1990) beobachtete in einer zweiten Studie den Nadir zwischen dem zwölften und siebzehnten Tag, wobei Färsen im Mittel den Nadir früher erreichten als Kühe. Senatore et al. (1996) ermittelte den Nadir am 18. Tag post partum.

Dagegen wurde in der vorliegenden Untersuchung der Nadir früher erreicht (22 von 30 Tieren erreichten den Nadir in der ersten Laktationswoche). Die Energiebilanz wird von drei Größen determiniert, der Milchleistung, der Trockensubstanzaufnahme und dem Körpergewicht. Die ersten beiden Größen weichen nicht wesentlich von den Literaturangaben ab, während das Körpergewicht zu Beginn dieser Studie durchschnittlich etwa 50 kg höher lag als bei Senatore

et al. (1996). In der gleichen Arbeit wird das geringste Gewicht in der sechsten Laktationswoche ermittelt. Die Tiere im hier beschriebenen Versuch wiesen bereits in der vierten Woche das geringste Körpergewicht auf. Abweichend von Senatore et al. (1996) war der Gewichtsverlust im ersten Laktationsmonat in dieser Studie niedriger (8,9 kg) als bei Senatore et al. (38 kg). Es bieten sich aus diesen Beobachtungen folgende Erklärungsmöglichkeiten für das frühe Eintreten des Nadir in unserer Untersuchung an:

- 1.) Die Tiere der vorliegenden Untersuchung hatten einen höheren Energieaufwand zur Erhaltung zu leisten. Die Mobilisierung der Körperreserven war zusätzlich langsamer als in vergleichbaren Untersuchungen. Die Geschwindigkeit, mit der der Nadir erreicht wird, könnte von schnell mobilisierbaren Körperreserven verringert werden.
- 2.) Es ist nicht quantifizierbar, wie hoch der Einfluß der Rasse auf die Flexibilität des Stoffwechsels ist. Wie in Kapitel 3.1.2 erwähnt ist, handelte es sich bei den Versuchstieren nicht um reinrassige Holstein-Friesian Kühe wie in der oben genannten Untersuchung, sondern um eine Kreuzung von Schwarzbuntem Milchrind und Holstein Friesian (Kapitel 3.1.2.)
- 3.) Die Auswirkungen der Umstallung 2 bis 3 Tage nach der Geburt sind nur schwer in ihrer Bedeutung für die Energiebilanzierung abzuschätzen. Es liegen keine Angaben im Schrifttum vor, die die Trockensubstanzaufnahmen bei umgestallten Tieren mit einer Vergleichsgruppe beschreiben.

Der Ausgleich der Energiebilanz wird im Schrifttum zwar unterschiedlich terminiert (Butler und Smith 1989, Butler 1992, Senatore et al. 1996), aber in der Regel später beschrieben (4. bis 14. Woche post partum) als in der vorliegenden Untersuchung (2. bis 8. Woche post partum). Der Grund für diese Abweichung ist darin zu sehen, daß die Höchstwerte der Milchleistung zwar mit den in der Literatur angegebenen Werten übereinstimmen, die Persistenz der Milchleistungskurven in der vorliegenden Arbeit allerdings weniger ausgeprägt war.

5.2. LH Reaktion der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Energiebilanz

5.2.1. LH Reaktion in Gruppe 1

Die Versuchsgruppe 1 wurde zu dem Zeitpunkt mit GnRH behandelt, an dem das postpartale Energiedefizit am höchsten war. Die Werte schwankten zwischen -41,11 MJ NEL/d und -91,13 MJ NEL/d. Den Anstieg der LH Sekretion in zeitlicher Abhängigkeit vom Geburtstermin hat Schallenberger (1985) erstmals beschrieben. Canfield und Butler (1990) haben gezeigt, daß ein Zusammenhang zwischen dem Anstieg der LH Sekretion post partum und dem Eintreten des Nadir der Energiebilanz besteht. Aufgrund dessen konnte erwartet werden, daß eine GnRH Applikation zum Zeitpunkt des Nadir keinen deutlichen Anstieg der LH Konzentration im Plasma nach sich zieht. Dieser Hypothese lag die Vermutung zugrunde, daß die Hypophyse zu dieser Zeit für die Wirkung von GnRH refraktär ist. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten aber, daß alle Tiere der Prüfungsgruppe 1 mit einem markanten Anstieg der LH Konzentration im Plasma auf eine GnRH Applikation reagierten. Die Hypophyse ist also auch zum Zeitpunkt des Nadir für GnRH sensibel. Bei allen Tieren der Versuchs- und Kontrollgruppen lagen die Werte für Östradiol-17 β unter 0,3 pg/ml. Bei keinem der Tiere war deshalb mit einem endogen bedingtem Anstieg der GnRH Konzentration zu rechnen. Es ist zu berücksichtigen, daß die applizierte Menge an GnRH die originäre Konzentration bei weitem übersteigt. Es ist im Portalvenenblut von Schafen eine physiologische GnRH Konzentration von 5 bis 35 pg/ml gemessen worden (Clarke und Cummins 1982). Allerdings liegen keine Untersuchungen darüber vor, welche GnRH Konzentrationen an der Hypophyse erreicht werden, wenn parenteral 500 μ g GnRH appliziert werden. Es ist davon auszugehen, daß der Hypothalamus eine initiiierende Funktion beim Wiedereinsetzen der LH Pulsation einnimmt, während die Hypophyse über den gesamten Zeitraum konstant für GnRH sensibel zu sein scheint. Es kann keine Aussage über die Syntheseleistung von LH in der Hypophyse aufgrund dieser Studie getroffen werden. Es ist denkbar, daß LH in der Hypophyse bereits vorlag und auf das exogen zugeführte GnRH freigesetzt wurde ohne einen direkten Einfluß auf die LH Synthese zu nehmen.

5.2.2. LH Reaktion in Gruppe 2

Tiere der Versuchsgruppe 2 wurden dann behandelt, wenn vom Wert des Nadir etwa 30 % wieder ausgeglichen waren. Die somit defizitäre Stoffwechsellage war zum Zeitpunkt der Behandlung schon zum Teil entschärft. Alle Tiere wiesen jedoch noch eine negative Energiebilanz auf. Die Werte zum Zeitpunkt der Behandlung lagen zwischen -24,64 MJ NEL/d und -48,84 MJ NEL/d. Alle Tiere der Versuchsgruppen reagierten auf die GnRH Applikation mit einem Anstieg der LH Konzentration im Plasma. Überraschend war die Beobachtung, daß die Tiere der Versuchsgruppe 2 weniger stark als die Tiere der Versuchsgruppe 1 auf die GnRH Applikation reagierten, obwohl der Nadir in dieser Gruppe zum Behandlungszeitpunkt schon überschritten war. Diese Beobachtung legte die Vermutung nahe, daß die negative Energiebilanz die Sensibilität der Hypophyse gegenüber GnRH erst verspätet herabsetzen könnte.

5.2.3. LH Reaktion der Gruppe 3

Die Tiere der Versuchsgruppe 3 hatten zum Behandlungszeitpunkt etwa 60 % ihres Energiedefizites ausgeglichen. Drei der Tiere zeigten schon eine positive Energiebilanz. Auch in dieser Gruppe reagierten alle Tiere intensiv auf die GnRH Applikation. Auch hier blieb die Intensität der Reaktion hinter der von Versuchsgruppe 1 zurück ($p < 0,05$).

5.2.4. LH Reaktion der Kontrollgruppe

Die LH Werte der Kontrollgruppe wurden zu Zeitpunkten gemessen, die zwischen dem Nadir und einem etwa 80 %igen Ausgleich der Energiebilanz lagen. Nach der Applikation des Placebo war keine Änderung der LH Konzentration im Plasma zu erkennen.

Unsere Hypothese, daß die Sensibilität der Hypophyse für GnRH in direkter Abhängigkeit zum Stadium der negativen Energiebilanz steht, konnte mit den oben beschriebenen Ergebnissen nicht bestätigt werden. Die Applikation von GnRH im Stadium der negativsten Energiebilanz führte nicht zu einer weniger ausgeprägten LH Sekretion der Hypophyse. Im Gegenteil reagierte die Hypophyse der Versuchstiere zu diesem Stadium mit einer signifikant höheren LH Sekretion als in späteren Phasen einer weniger ausgeprägten

Energiemangelsituation. Die signifikant schwächere Reaktion von Versuchsgruppe 2 und Versuchsgruppe 3 könnte darauf hindeuten, daß die Auswirkungen der negativen Energiebilanz auf die Hypophysensensibilität erst mit einiger Verzögerung eintreten. Butler (1997) erklärt diese Beobachtung damit, daß zu den untersuchten Stadien der Energiebilanz LH in der Hypophyse gespeichert sein könnte, unter physiologischen Bedingungen jedoch nicht pulsatil sezerniert wird. Erst die exogene Applikation von GnRH in hoher Dosierung bewirkt seine Freisetzung. Diese Hypothese stimmt mit der von Döcke (1994) überein, der postuliert, daß LH in zwei Formen vorliegt, einem sogenannten „Speicherpool“ und einem „schnell freisetzbaren Pool“. Erst nach der Umlagerung vom Speicherpool in den peripheren, schnell freisetzbaren Pool ist eine LH freisetzende Wirkung von GnRH bei geringer Dosis möglich. Neill et al. (1987) hatten beobachtet, daß durch hohe GnRH Dosen bei Bullen bis zu 10mal höhere LH Konzentrationen im Plasma erreicht werden konnten als bei spontanen Freisetzungen. Bereits durch Applikation von 1 ng/kg GnRH können physiologische LH Konzentrationen induziert werden (Döcke 1994). Daraus schlossen sie, daß der schnell freisetzbare LH Pool relativ umfangreich sein müsse. Diese Autoren gehen davon aus, daß ruhende LH Speicherzellen vorliegen. Diese Zellen besitzen vorübergehend keine GnRH Rezeptoren. Erst nach Östrogen Einfluß exprimieren diese Speicherzellen GnRH Rezeptoren. Die Gruppen der vorliegenden Untersuchung wiesen alle eine Konzentration von Östradiol-17 β im Plasma von unter 0,3 pg/ml auf. Trotzdem gab es quantitative Unterschiede in der LH Freisetzung. Das widerspricht der Erklärung von Neill et al. (1987). Wir vermuten, daß die Kapazität des Speicherpools mit entschärfter Energiemangelsituation durch vorherige LH Freisetzungen abnimmt und deshalb bei exogen induzierter LH Freisetzung geringere Werte erreicht wurden.

5.3. Nettoenergiebilanz und indirekte Parameter

5.3.1. Nettoenergiebilanz und BCS Werte

Die Veränderung der Körperkondition im Verlauf der Laktation ist in Kapitel 4.3.1. dargestellt. Einem mittleren Abfall der Körperkonditionswerte um 0,15 Punkte in den ersten acht Laktationswochen stand in Woche 9 und 10 ein Anstieg um 0,1 Punkt beziehungsweise 0,4 Punkte gegenüber. Der Ausgleich der Energiebilanz wurde im Durchschnitt in der sechsten Woche erreicht. Wie in Kapitel 4.3.6. dargestellt wurde, konnte kein signifikanter

Zusammenhang zwischen dem Verlauf der Energiebilanz und der Veränderung der Körperkondition nachgewiesen werden.

5.3.2. Nettoenergiebilanz und Rückenfettdicke

Bei der Messung der Rückenfettdicke der Tiere war die Frequenz der Messungen niedriger als bei der Erhebung der übrigen Parameter. Unabhängig davon wurde in den vorliegenden Ergebnissen aber deutlich, daß der Abbau der Rückenfettdicke noch zum letzten Meßtermin in der zehnten Laktationswoche anhielt. Diese Werte stimmten mit den Angaben von Staufenbiel (1993) überein. Allerdings lagen die Fettdicken in der vorliegenden Untersuchung mit 22,7 mm deutlich höher als in der zitierten Arbeit. Der Autor wies darauf hin, daß ein Widerspruch besteht zwischen beobachteter Lipolyse und dem Verlauf der kalkulierten Energiebilanz. Während sich die kalkulierte Energiebilanz wieder ausgeglichen zeigte, hielt die Lipolyse an. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, daß sich die Rückenfettdicke weiter verringert, während die Energiebilanz schon ausgeglichen war. Mögliche Ursachen für diese Beobachtungen könnten der nicht quantifizierbare Energiebedarf für puerperale und immunologische Prozesse sein. Bei Staufenbiel (1993) könnte die unkonventionelle Fütterungsmethode zu diesem Ergebnis geführt haben. Solange aber keine geeignete Methode zur Abschätzung dieser Faktoren vorliegt, bleibt die Erklärung dieser Ungleichheit offen.

5.3.3. Nettoenergiebilanz und Phosphoenolpyruvat in der Milch

In einer Arbeit von Stahlhut-Klipp und Rojahn (1987) wurden die Veränderungen der Phosphoenolpyruvat (PEP) Konzentration in der Milch im Verlauf der Laktation beschrieben. Die Werte schwankten zwischen 0,2 mg/kg und 36,8 mg/kg. Die durchschnittliche PEP Konzentration in den ersten 15 Laktationstagen lag mit 17,5 mg/kg am höchsten und fiel im weiteren Verlauf der Laktation ab. PEP Werte über 20 mg/kg wurden nur bis zum 60. Laktationstag gefunden. Die PEP Konzentrationen in der vorliegenden Arbeit lagen mit durchschnittlich 12,01 mg/kg in der zweiten Laktationswoche etwas niedriger. Die Werte in der achten Laktationswoche lagen bei durchschnittlich 8,9 mg/kg. Über 20 mg/kg wurden als Maximalwert nur bis zur fünften Laktationswoche gemessen. Stahlhut-Klipp und Rojahn (1987) weisen auf einen möglichen Zusammenhang zwischen niedriger PEP Konzentration zu Beginn der Laktation und einem ausgeprägten Energiedefizit hin. Während hohe PEP

Konzentrationen als positiv eingestuft und als Ausdruck einer intensiven Glukoneogenese beziehungsweise Glykolyse aufgefaßt werden, gelten niedrige Werte als Hinweis auf eine entgleiste Stoffwechsellage. In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Energiebilanz und der Konzentration von Phosphoenolpyruvat gefunden werden. Dies ist damit zu begründen, daß die Einflußfaktoren auf die Phosphoenolpyruvat Konzentration in der Milch sehr weit gestreut sind. Die Laktationsnummer führt Stahlhut-Klipp und Rojahn (1987) als einen determinierenden Faktor für die Konzentration von Phosphoenolpyruvat an. Nach Schneider et al. (1989) bestimmt der Buttersäuregehalt der Ration die Phosphoenolpyruvat Konzentration in der Milch. Dieser Einflußfaktor darf im vorliegenden Versuchsaufbau vernachlässigt werden. Die Varianz der Werte ist dennoch zu weit gestreut, als daß die Konzentrationen die energetische Unterversorgung der einzelnen Tiere wiedergeben könnte.

5.3.4. Nettoenergiebilanz und Betahydroxybutyrat in der Milch

Die Konzentrationen von Betahydroxybutyrat (BHB) in der Milch stimmen in der Größenordnung mit den Literaturangaben (Kapitel 2.2.3.) überein. Es ist anzumerken, daß die verwendeten Futterchargen über den Versuchszeitraum nicht gewechselt wurden. Somit kann ein veränderter Anteil ketogener Futtermittel ausgeschlossen werden. In der vorliegenden Untersuchung konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Entwicklung der BHB Konzentration in der Milch und dem Verlauf der negativen Energiebilanz gefunden werden (Kapitel 4.3.6.). Die Mittelwerte der Konzentrationen stiegen zu einer Zeit, in der der Median der berechneten Energiebilanzen schon wieder weit im positiven Bereich zu finden ist. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen der Messung der Rückenfettdicke. Somit ist auch hier zu beobachten, daß sich die Auswirkungen einer lipolytischen Stoffwechsellage noch weit über den Zeitraum der negativen Energiebilanz hinaus erstrecken.

5.3.5. Nettoenergiebilanz und Acetoacetat in der Milch

Die Konzentrationen von Acetoacetat in der Milch lagen in der vorliegenden Untersuchung relativ konstant um 1,5 mg/kg. Die Werte im Schrifttum schwanken von 2 mg/kg bis 17 mg/kg. Es konnte kein Zusammenhang zum Verlauf der Energiebilanz hergestellt werden. Der Großteil des Acetoacetat entspringt dem Leberstoffwechsel, nur ein geringer Anteil der

Synthese in der Milchdrüse (Kronfeld 1971). Acetoacetat steht mit BHB und Aceton in einem teilweise reversiblen Fließgleichgewicht (Dirksen et al. 1997).

Acetoacetat als Muttersubstanz der Ketonkörper ist nicht stabil, sondern geht spontan in Aceton über und verdampft (Bergmann 1971). Inwieweit dieser Vorgang im vorliegenden Versuch Einfluß auf die fast konstante Acetoacetat Konzentration in der Milch genommen hat, kann nicht quantifiziert werden.

Die Reduktion von Acetoacetat zu BHB wird in verschiedenen Körpergeweben durch die BHB Dehydrogenase katalysiert. Dieser Vorgang ist reversibel. Erst wenn der Anteil von BHB am Gesamt-Ketonkörpergehalt mehr als 80 % beträgt, verschiebt sich das Gleichgewicht zugunsten von Acetoacetat (Filar 1979). Es kann aufgrund der konstanten Acetoacetat Konzentration davon ausgegangen werden, daß zu keinem Zeitpunkt der Probennahme dieser Punkt erreicht wurde.

5.3.6. Nettoenergiebilanz und Verlauf der Lebendmasse Entwicklung

Die Entwicklung der Lebendmasse unterlag starken Schwankungen. In Kapitel 5.1.1. und 4.3.6. wurde schon auf die Entwicklung der Lebendmasse bei den Versuchstieren eingegangen. Aus den Betrachtungen in Kapitel 4.3.6. geht hervor, daß in der vorliegenden Untersuchung zwischen negativer Energiebilanz und Lebendmasse kein signifikanter Zusammenhang zu erkennen war. Die Gewichtsverluste bis zur vierten Woche p.p. von 8,87 kg im Durchschnitt lagen weit unter den Angaben des Schrifttums (Senatore et al. 1996). In Kapitel 5.1.1. wurde erwähnt, daß leichtere Tiere mehr Körpermasse mobilisieren konnten als schwerere Tiere. Senatore et al. (1996) fanden einen positiven Einfluß auf die Fruchtbarkeit bei Tieren, die wenig Körpergewicht in der Hochlaktation verlieren. Bei starkem Gewichtsverlust erniedrigt sich der Progesteronspiegel im Plasma während des ersten Zyklus. Villa-Godoy et al. (1988) beobachtete keinen Zusammenhang zwischen Gewichtsverlust und Progesteronkonzentration im Plasma beziehungsweise Zeitspanne bis zur ersten Ovulation. Diese widersprüchlichen Ergebnisse könnten durch unsere Ergebnisse erklärt werden, nach denen kein direkter Zusammenhang zwischen Energiebilanz und Körpergewicht besteht.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Energiebilanz von 30 Hochleistungskühen während der ersten zwölf Laktationswochen individuell verfolgt. Auf der Grundlage dieser Daten wurden die Kühe in drei Prüfungsgruppen und eine Kontrollgruppe unterteilt. Kühen der ersten Prüfungsgruppe wurde zum Zeitpunkt ihres Nadirs 500 µg GnRH (Fertagyl[®], Firma Intervet) appliziert. (Eine Stunde vor Applikation und über den Zeitraum von vier Stunden danach wurde den Tieren aller Gruppen im Abstand von zwanzig Minuten Blutproben entnommen und die LH Konzentration bestimmt). Die zweite Prüfungsgruppe erhielt eine GnRH Applikation nach Ausgleich von 30 % der negativen Energiebilanz. Der dritten Prüfungsgruppe wurde nach Ausgleich von 60 % der negativen Energiebilanz GnRH appliziert. Der Kontrollgruppe wurde zu unterschiedlichen Energiebilanzstadien ein Placebo verabreicht. Alle Tiere hatten zum Zeitpunkt der GnRH Verabreichung entweder noch nicht ovuliert oder befanden sich im Interöstrus (Östradiol-17β < 0,3pg/ml). Alle Tiere zeigten eine ungestörte postpartale Involution des Uterus. Parallel zur Energiebilanzierung wurde wöchentlich die Körperkondition erfaßt, das Gewicht ermittelt, die Rückenfettdicke gemessen und die Milchkonzentrationen von Betahydroxybutyrat, Acetoacetat und Phosphoenolpyruvat bestimmt. Keines der Tiere zeigt klinische Anzeichen einer gestörten Milchsekretion.

Ziel der Untersuchung war es

- (1) festzustellen, wann und mit welcher Ausprägung der Maximalwert der negativen Energiebilanz (Nadir) bei den Tieren eintrat;
- (2) den Verlauf der Energiebilanz zu verfolgen und festzustellen, wann die negative Energiebilanz bei den Tieren wieder ausgeglichen war;
- (3) die Sensibilität der Hypophyse für exogenes GnRH in Korrelation zum Verlauf der Energiebilanz zu beurteilen;
- (4) die Möglichkeit zu evaluieren, durch indirekte Parameter die Energiebilanz beim Einzeltier abzuschätzen.

Bei 22 Kühen (73,3%) wurde der negativste Wert der Energiebilanz in der ersten Laktationswoche gefunden. Im Durchschnitt wiesen die Tiere ein Defizit von -57,1 MJ NEL/d bei einer Standardabweichung von 19,0 MJ NEL/d auf.

Der Ausgleich der Energiebilanz trat bei 11 Tieren (39,3%) in der dritten bis fünften Laktationswoche und bei 10 Kühen (35,7 %) in der sechsten Laktationswoche ein.

Die Menge des durch die GnRH Applikation freigesetzten LH war in der ersten Prüfungsgruppe (GnRH zum Zeitpunkt des Nadir) signifikant größer als in der zweiten (GnRH nach 30 %igem Energiebilanzausgleich) und in der dritten Prüfungsgruppe (GnRH nach 60% igem Energiebilanzausgleich).($p < 0.05$) In der Kontrollgruppe veränderte sich die LH Konzentration im Plasma erwartungsgemäß nicht.

Von den indirekten Parametern Körperkondition, Rückenfettdicke, Körpergewicht, Phosphoenolpyruvat-, Acetoacetat- und Betahydroxybutyratkonzentration in der Milch erwies sich keiner als hinreichend mit der Energiebilanz korreliert, um als leichter zu erhebende Maßzahl für die Energiebilanz zu dienen.

7. Summary

Energy balance in post partum dairy cows: Impacts of a single GnRH administration on the pituitary reaction and on different metabolic indicators.

The objective of this study was to examine the influence of negative energy balance in dairy cows post partum on the LH release after a single GnRH application. Also the development of body condition, body weight and milk concentration of betahydroxybutyrate, Acetoacetat and phosphoenol pyruvate was analyzed to evaluate a possible correlation with energy balance.

For 30 Holstein-Friesian cows daily dry matter intake, milk yield and weekly body weight was monitored. Based on this data, the negative energy balance per day was calculated for each cow as the difference between energy needed for maintenance plus lactation and energy consumed. The cows were divided in four different groups.

Group 1 (n = 7): Cows treated with 500 µg GnRH (Fertagyl®) intramuscularly when the most negative point of energy balance (nadir) was reached.

Group 2 (n = 6): Cows treated with the same dose of GnRH when about 30 % of the individual value of nadir was already compensated.

Group3 (n = 10): Cows treated with the same dose of GnRH when about 60 % of the individual value of nadir was compensated.

Controls (n = 7): Cows received a placebo (0,9% NaCl solution) on different stages of negative energy balance.

All cows were either in interestrus or in anestrus, as determined by plasma estradiol-17β levels at the time of treatment. All animals did not experience any postpartum disorders. Blood samples were collected every 20 minutes beginning one hour before and ending four hours after treatment. LH was determined using enzyme linked immuno sorbant assay (ELISA).

Body condition and body weight was evaluated weekly. Ultrasonic measurements of the backfat thickness were made over the area between the hook- and the pin bone. Weekly milk samples were taken and analyzed for betahydroxybutyrate, Acetoacetate and phosphoenol pyruvate.

The LH release of group 1 cows was significantly higher than in every other group. Group 2 and 3 cows were showing no difference. In group 4 no changes in LH concentration could be detected before and after placebo administration.

None of the metabolic parameters tested was significantly correlated with energy balance. In this study no statement was made about the biological quality of the released LH.

We conclude, that the sensitivity of the pituitary gland for GnRH is not directly affected by the level of energy balance post partum. It is possible, that the interval from calving to nadir (i.e. the slope of the negative energy balance curve) has a higher influence of the sensitivity of the pituitary gland than the absolute level of negative energy balance.

8. Literaturverzeichnis

Allrich, R.D. (1994):

Symposium: Estrus, new devices and monitoring. Endocrine and neural Control of estrus in dairy cows.

J. Dairy Sci. 77, 2738-2744.

Allrich, R.D., J.R. Parfet, C.A. Marvin, G.E. Moss und P.V. Malven (1985):

In vitro release of LHRH from the bovine pituitary stalk-median eminence: Alterations during the postpartum period.

Dom. Anim. Endocrinology 2, 191-196.

Azad, N., N.V. Emanuele, M.M. Hallorain, J. Tentler und M.R. Kelley (1991):

Presence of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) mRNA in rat spleen lymphocytes. Endocrinology 128, 1679-1681.

Baldwin, B.R., N.E. Forsberg und C.Y. Hu (1985):

Potentials for altering energy partition in the lactating cow.

J. Dairy Sci. 68, 3394

Barker-Gibb, M.L. und I.J. Clarke (1996):

Increased Galanin and Neuropeptide -Y Immunoreactivity within the Hypothalamus of Ovariectomised Ewes following a Prolonged Period of Reduced Body Weight Is Associated with Changes in Plasma Growth Hormone but Not Gonadotropin Levels.

Neuroendocrinology 64, 194-207.

Barker-Gibb, M.L., C.J. Scott, J.H. Boublik und I.J. Clarke (1995):

The role of neuropeptide Y (NPY) in the control of LH secretion in ewe with respect to season, NPY receptor subtype and the site of action in the hypothalamus. J. Endocrin. 147, 565-579.

Barrel, G.K., S.M. Moenter, A. Caraty und F.J. Karsch (1992):
Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe.
Biol. Reprod. 46, 1130-1135.

Bauer, J. (1990):
Untersuchungen zur Anwendung der invasiven Rückenfettdickenmessung beim Rind.
Vet. Diss. Humboldt-Univ., Berlin

Bauman, D.E. und W.B. Currie (1980):
Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving
homeostasis and homeorhesis.
J. Dairy. Sci. 63, 1514

Berger, A. (1995):
Untersuchungen zur Brauchbarkeit eines Schnelltestes zur Bestimmung von
Betahydroxybuttersäure in Kuhmilch.
Vet. Diss. Ludwig-Maximilian-Univ., München

Berghorn, K.A., R.D. Allrich und C.H. Noller (1987):
Influence of energy balance on ovarian activity and estrous behavior in postpartum dairy
cows.
J. Dairy Sci. 70, 184 (Abstr.)

Bergmann, E.N. (1971):
Hyperketonaemia - Ketogenesis and ketone body metabolism.
J. Dairy. Sci. 54, 936-947.

Bergmeyer, H.U. (1974):
Methoden der enzymatischen Analyse.
In Anonymous Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse.

Blache, D., M. Batailler, und C. Fabre-Nys (1993):

Oestrogen receptors in the preoptic-hypothalamic continuum: immuno-histochemical study of the distribution and cell density during induced oestrus cycle in ovariectomized ewe.

Journal of Neuroendocrinology 6, 329-339.

Blache, D., C.J. Fabre-Nys und G. Venier (1991):

Ventromedial hypothalamus as a target for oestradiol action on proceptivity, receptivity and luteinizing hormone surge of the ewe.

Brain Research 546, 241-249.

Bond, C.T. und J.P. Adelman (1993):

Advances in Gonadotropin-Releasing Hormone.

In Genes in Mammalian Reproduction, R.B.L. Gwatkin, ed., pp. 229-245, Wiley-Liss, New York USA.

Bond, C.T., R.S. Seal, R. Simerly und J.P. Adelman (1991):

Molecular aspects of GnRH:Part I: 5' flanking sequence of rat GnRH gene does not respond to estrogen in vivo or in vitro. Serono Symposia, GnRH, Modes of Action and Analogues. Scottsdale, Arizona.

In Genes in Mammalian Reproduction, R.B.L., Wiley-Liss, New York USA.

Bourguignon, J.P., A. Gerard, M.L.A. Gonzales und P. Franchimont (1993):

Acute suppression of gonadotropin-releasing hormone secretion by insulin-like growth factor 1 and subproducts: an age dependent endocrine effect. Neuroendocrinology 58, 525-530.

Bourguignon, J.P., A. Gerard, J. Mathieu, J. Simons und P. Franchimont (1989):

Pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone from hypothalamic explants is restrained by blockade of N-methyl-D,L-aspartate receptors.

Endocrinology 125, 1090-1096.

Braden, T.D. und P.M. Conn (1990):

Gonadotropin-releasing hormone and its actions.

Can. J. Physiol. Pharmacol. 69, 445-458.

Braden, T.D., P.G. Farnworth, H.G. Burger und P.M. Conn (1990):

Regulation of the synthetic rate of gonadotropin-releasing hormone receptors in rat pituitary cell cultures by inhibin.

Endocrinology (Baltimore) 127, 2387-2392.

Brann, D.W. und V.B. Mahesh (1991):

Endogenous excitatory amino acid involvement in the preovulatory and steroid-induced surge of gonadotropins in the female rat.

Endocrinology-Philadelphia 128, 1541-1547.

Braun, R.K., G.A. Donovan, T.Q. Tran, J.K. Shearer, E.L. Bliss, und D.W. Webb (1986):

Body condition scoring dairy cows as a herd management tool.

Comp. Cont. Educ. Pract. Veterinarian 8, 10, F62-F63, F65-F67

Britt, J.H. (1992):

Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility.

The bovine proceedings 24, 39-43.

Brooks, J., P.L. Taylor, P.T.K. Saunders, K.O. Eidne, W.J. Struthers und A.S. McNeilly (1993):

Cloning and sequencing of sheep pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor and changes in expression of its mRNA during the estrous cycle.

Molecular and Cellular Endocrinology 94, R23-R27.

Busbridge, N.J., G.V.P. Chamberlain, A. Griffiths und S.A. Whitehead (1990).

Non-steroidal follicular factors attenuate the self priming action of gonadotrophin releasing on the pituitary gonadotrophs.

Neuroendocrinology 51, 493-499.

Butler, W.R. (1997):

Persönliche Mitteilung.

Butler, W.R. und C.C. Elrod (1992):

Reproduction in high-yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake.

Auszug aus: Eighth International Conference on Production Diseases in farm Animals. Bern, Schweiz.

Butler, W.R. und R.D. Smith (1989):

Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle.

J. Dairy Sci. 72, 67-783.

Canfield, R.W. und W.R. Butler (1990):

Energy balance and pulsatile LH secretion in early post-partum dairy cattle. Domestic Animal Endocrinology 7, 323-330.

Canfield, R.W. und W.R. Butler (1991):

Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows.

J Anim Sci 69, 740-746.

Canfield, R.W., C.J. Sniffen, und W.R. Butler (1990):

Effects of excess degradable Protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle.

J. Dairy. Sci. 73, 2342-2349.

Caraty, A., N.P. Evans, C.J. Fabre-Nys und F.J. Karsch (1995):

The preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge: a neuroendocrine signal for ovulation.

Journal of Reproduction and Fertility Supplement 49, 245-255.

Clark, J.T., P.S. Kalra und S.P. Kalra (1985):
Neuropeptid Y stimulates feeding but inhibits sexual behavior in rats.
Endocrinology 117, 2435-2442.

Clarke, I.J. (1988):
GnRH Secretion.
11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, University
College Dublin, Eire, June 26-30, Proceedings, 5, 1-9.

Clarke, I.J. (1989):
The GnRH/Gonadotropin axis in the ewe, cow and sow.
Domestic Animal Endocrinology 6(1), 1-14.

Clarke, I.J. (1995):
Evidence that the switch from negative to positive feedback at the level of the pituitary gland
is an important timing event for the onset of the preovulatory surge in LH in the ewe.
J. Endocr. 145, 271-282.

Clarke, I.J. und J.T. Cummins (1982):
The temporal relationship between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and luteinizing
hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes.
Endocrinology 111, 1737-1739.

Clarke, I.J. und J.T. Cummins (1984):
Direct pituitary effects of estrogen and progesterone on gonadotropin secretion in the
ovariectomized ewe.
Neuroendocrinology 39, 267-274.

Clarke, I.J. und J.T. Cummins (1985):

Increased GnRH pulse frequency associated with estrogen-induced LH surges in ovariectomized ewes.

Endocrinology 116, 2376-2383.

Clarke, I.J., J.T. Cummins, J.K. Findlay, K.T. Burman und B.W. Doughton (1984):

Effects on plasma luteinizing hormone and follicle stimulating hormone of varying the frequency and amplitude of gonadotropin-releasing hormone pulses in ovariectomized ewes with hypothalamo-pituitary disconnection. Neuroendocrinology 39, 214-221.

Clarke, I.J., G.B. Thomas, B. Yao und J.T. Cummins (1987):

GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle.

Neuroendocrinology 46, 82-88.

Clayton, R.N., A.R. Solano, A. Garcia-Vila, M.L. Dufau und K.J. Catt (1980):

Regulation of pituitary receptors for gonadotropin releasing hormone during the rat cycle.

Endocrinology (Baltimore) 107, 699-706.

Crowder, M.E. und T.M. Nett (1984):

Pituitary content of gonadotrophins and receptors for gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic content of GnRH during the periovulatory period of the ewe.

Endocrinology 114, 234-239.

Danforth, D.R. und C.Y. Cheng (1993):

The identification of a gonadotropin surge inhibiting factor and its role in the regulation of pituitary gonadotropin secretion.

Human Reproduction 8(Suppl 2), 117-122.

Dierschke, D.J., A.N. Bhattacharya, L.E. Atkinson und E. Knobil (1970):

Circhoral oscillations of plasma LH levels in ovariectomized rhesus monkey.

Endocrinology 87, 850-853.

Dirksen, G., C. Hagert-Theen, M. Alexander-Katz, und A. Berger (1997):
Monitoring the metabolism of cows at peak lactation by means of milk constituents.II.
Acetone, acetoacetate and beta-hydroxybutyrate.
Tierärztliche Umschau 8, 476-484.

Dirksen, G., H.G. Liebich, G. Brosi, H. Hagemester und E. Mayer (1997):
Morphologie der Pansenschleimhaut und Fettsäureresorption beim Rind - bedeutende Faktoren
für Gesundheit und Leistung.
Zbl. Vet. Med A13, 414

Döcke, F. (1994):
Veterinärmedizinische Endokrinologie.
Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart.

Evans, N.P., G.E. Dahl, D.T. Mauger, V. Padmanabhan, L.A. Thrun und F.J. Karsch (1995):
Does estradiol induce the preovulatory gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge in the
ewe by inducing a progressive change in the mode of operating of the GnRH neurosecretory
system?
Endocrinology-Philadelphia 136, 5511-5519.

Fabre-Nys, C. und G.B. Martin (1991):
Hormonal control of proceptive and receptive sexual behaviour and the preovulatory LH surge
in the ewe: reassessment of the roles of estradiol, testosterone and progesterone.
Horm. Behav. 25, 295

Faulkner, A. (1980):
The presence of cellular metabolites in milk.
Biochem. Biophys. Acta 630, 141-145.

Ferguson, J.D. (1991):
Nutrition and reproduction in dairy cows.
Vet. Clin. N. Am 7, 483-507.

Ferguson, J.D. (1991):

Nutrition and reproduction in dairy cows.

Vet. Clin. N. Am. :Food Anim. Pract. 7, 84

Ferin, M. (1987):

A role for the endogenous opioid peptides in the regulation of gonadotropin secretion in the primate.

Horm Res 28, 119-124

Filar, J. (1979)

Über den Gehalt an Beta-Hydroxybutyrat, Acetoacetat und Aceton im Blut von gesunden und an Ketose erkrankten Kühen.

Wiener Tierärztliche Monatsschrift 66, 377-380.

Fowler, P.A., I.E. Messinis und A.A. Templeton (1990):

Inhibition of LHRH-induced LH and FSH release by gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF) from human follicular fluid.

J. Reprod. and Fert. 90, 587-594.

Glatzel, P. und C.-C. Merck (1992):

Epidemiology of bovine infertility as a herd management problem associated with artificial insemination.

Wiener-Tierärztliche-Monatsschrift 74, 355-358.

Goodman, R.L. und F.J. Karsch (1980):

Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids.

Endocrinology 107, 1286-1290.

Gregg, D.W., G.E. Moss, R.E. Hudgens und P.V. Malven (1986):

Endogenous opioid modulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in postpartum ewes and cows.

J Anim Sci 63, 838-847.

Gresham, J.D., J.W. Holloway, W.T. Butts und J.R. McCurley (1986):

Prediction of mature cow carcasses composition from live animal measurements.

J. Dairy. Sci. 63, 1041-1059

Gundlich, U. (1991):

Zum physiologischen Verlauf von Phosphoenolpyruvat und sieben weiteren Minorbestandteilen in Gemelken der Früh lactation bei 40 SB Kühen eines Bestandes.

Vet. Diss. Tierärztliche Hochschule, Hannover

Gurgus, R., Butcher, M. und Amoss, M. (1972):

The structure of the ovine hypothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LRF).

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69, 278-289

Hamernick, D.L., Kim, K.E., Maurer R.A. und. Nett, T.M. (1987):

Progesterone does not affect the amount of mRNA for gonadotropins in the anterior pituitary gland of ovariectomized ewes.

Biol. Reprod. 37, 1225-1232.

Harrison, R.O., S.P. Ford, J.W. Young, A.J. Conley und A.R. Freeman (1990):

Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows.

J. Dairy Sci. 73, 2749-2758.

Hazum, E. (1982):

GnRH-receptor of rat pituitary is a glycoprotein: differential effect of neuroaminidase and lectins on agonists and antagonists binding.

Mol. Cell. Endocrinol. 26, 217-222.

Hennies, M. (1994):

Enzymimmunologische Untersuchungen am Somatotropin bei Fleischziegen.

Agr. Diss. Georg-August-Universität Göttingen

Herbison, A.E., J.E. Robinson. und D.C. Skinner (1993):

Distribution of estrogen receptor-immunoreactive cells in the preoptic area of the ewe:co-localization with glutamic aciddecarboxylase but not luteinizing hormone releasing hormone.

Neuroendocrinology 57, 751-759.

Heuwieser, W., J.D. Ferguson, C.L. Guard, R.H Foote, L.D. Warnick und. L.C Breickner, (1994):

Relationships between administration of GnRH, body condition score and fertility in holstein dairy cattle.

Theriogenology 42, 703-714.

Heuwieser, W., R. Mansfeld und R.H. Foote (1995):

Einflüsse von GnRH auf die Fruchtbarkeit von Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung des Körperkonditionsindex.

Der praktische Tierarzt 10, 886-893.

Hiney, J.K., V. Srivastava, C.L. Nyberg, S.R. Ojeda und. W.L .Dees. (1996):

Insulin-like growth factor 1 of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty.

Endocrinology-Philadelphia 137, 3717-3728.

Hoffman, B. und. R.Hamburger, (1973):

Radioimmunologische Bestimmung von Progesteron, Beziehungen zur Gelbkörperfunktion und Milchfettkonzentration.

Zuchthygiene 8, 154-162.

Holloway, K.E., T.E. Kiser, F.N Thompson., D.L. Boggs, L.S. Leshin und. L.A Rund (1987):
Effects of metabolizable energy level on LH response to naloxone in postpartum beef cows.
J Anim Sci 65 (Suppl.1), 396-397.

Holter, J.B. und W.E. Urban JR (1992):
Water partitioning and intake prediction in dry and lactating Holstein cows.
J. Dairy. Sci. 75, 1472-1479.

Huntington, G.B. (1990):
Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: influence of physiological state
and nutrition.
Reproduction, Nutrition, Development 30, 35-47.

Jakubowski, M., M. Blum und J.L. Boberts (1991):
Postnatal development of gonadotropin-releasing hormone and cyclophilin gene expression in
the female and male rat brain.
Endocrinology 128, 2702-2708.

Jolly, P.D., S. McDouglas,., L.A. Fitzpatrick, K.L. Macmillan und K.W. Entwistle (1995):
Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows.
J. Reprod. and Fert. (Suppl) 49, 477-492.

Karsch, F.J., J.M. Bowen., A. Caraty, N.P. Evans und S.M. Moenter, (1997):
Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation.
Biol. Reprod. 56, 303-309.

Karsch, F.J., J.T. Cummins und I.J. Clarke (1987):
Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the
ewe.
Biol. Reprod. 36, 1207-1218.

Karsch, F.J., J.T. Cummins, G.B Thomas und I.J. Clarke (1987):
Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the ewe.
Biol. Reprod. 36, 1207-1218.

Karsch, F.J., S.M. Moenter und A. Caraty (1992):
The neuroendocrine signal for ovulation.
Anim. Reprod. Sci. 28, 329-341.

Kasa-Vubu, J.Z., G.E. Dahl, N.P. Evans, L.A. Thrun, S.M. Moenter, V. Padmanabhan und F.J. Karsch (1992):
Progesterone blocks the estradiol-induced gonadotropin discharge in the ewe by inhibiting the surge of gonadotropin-releasing hormone.
Endocrinology 131, 208-212.

Knobil, E. (1980):
The neuroendocrine control of the menstrual cycle.
Rec. Prog. Horm. Res. 36, 53-88.

Kolb, E. und K. Elze (1995):
Durch Energiemangel beim Rind ausgelöste Fortpflanzungsstörungen. Übersichtsreferat.
Der praktische Tierarzt 7, 623-626.

Kronfeld, D.S. (1971):
Hypoglycemia in ketotic cows.
J. Dairy. Sci. 54, 949-961.

Küpfer, U. und H. Stämpfli (1981):
Einfluss eines im Puerperium verabreichten GnRH-Analoges (Hoe 766) auf die Fruchtbarkeit von Milchkühen.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 123, 355-362.

Laws, S.C., M.J. Beggs, J.C. Webster und W.L. Miller (1990):

Inhibin increases and progesterone decreases receptors for gonadotrophin-releasing hormone in ovine pituitary culture.

Endocrinology 127, 373-380.

Lean I.J., T.B. Farver, H.F. Troutt, M.L. Bruss, J.C. Galland, R.L. Baldwin, C.A. Holmberg und L.D. Weaver (1992):

Time series cross-correlation analysis of postparturient relationships among serum metabolites and yield variables in Holstein cows.

J. Dairy Sci. 75, 1891-1900.

Lehman, M.N., F.J.P. Ebling, S.M. Moenter und F.J. Karsch (1993):

Distribution of estrogen-immunoreactive cells in the sheep brain.

Endocrinology 133, 1579-1583.

Lehman, M.N. und F.J. Karsch (1993):

Do GnRH, tyrosine hydroxylase and beta-endorphin-immunoreactive neurons contain estrogen receptors? A double-label immunocytochemical study in the Suffolk ewe.

Endocrinology 133, 876-895.

Leshin, L.S., L.A. Rund, J.W. Crim, und T.E. Kiser (1988):

Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone and proopiomelanocortin neurons within the preoptic area and hypothalamus of the bovine brain.

Biol. Reprod. 39, 63-975.

Leshin, L.S., L.A. Rund und T.E. Kiser (1989):

Naloxone increases luteinizing-hormone releasing hormone secretion from the bovine preoptic area and median eminence.

J Anim Sci 67, (Suppl 2), 55-67

Leung, K., V. Padmanabhan, E.M. Convey, Short und R.B. Staigmüller (1984):
Relationship between pituitary responsiveness to GnRH and number of GnRH-binding sites in
pituitary glands of beef cows.

J. Reprod. and Fert. 71, 267-277.

Lucy M.C., C.R. Staples, F.M. Michel und W.W. Thatcher (1991):
Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early
postpartum dairy cows.

J. Dairy Sci. 74, 473-482.

Lucy, M.C., C.R. Staples, W.W. Thatcher, P.S. Erickson, R.M. Cleale, J.L. Firkins, J.H.
Clark, M.R. Murphy und B.O. Brodie (1992):
Influence of diet composition, dry matter intake, milk production and energy balance on time
of post-partum ovulation and fertility in dairy cows.

Animal-Production 54, 323-331.

Macmillan, K.L., I.J. Lean und C.T. Westwood (1996):

The effects of lactation on the fertility of dairy cows.

Australian Veterinary Journal 73, 141-147.

Malabu, U.H., A. Kilpatrick, M. Ware, R.G. Vernon und G. Williams (1994):

Increased neuropeptid Y concentrations in specific hypothalamic regions of lactating rats:
possible relationships to hyperphagia and adaptive changes in energy balance.

Peptides 15, 83-87.

Maltz, E., S. Devir, J.H.M. Metz und H. Hogeveen (1997):

The body weight of the dairy cow: I. Introductory study into body weight changes in dairy
cows as a management aid.

Livestock-Production-Science 48, 175-186.

Malven, P.V., S.A. Haglof und H. Degroot (1992):

Effects of intracerebral administration of neuropeptide Y on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized sheep.

Brain Research Bulletin 28, 871-875.

Marian, J. und P.M. Conn (1983):

Subcellular localization of receptor for gonadotropin-releasing hormone in pituitary and ovarian tissue.

Endocrinology (Baltimore) 112, 104-112.

Marian, J., R.L. Cooper und P.M. Conn (1981):

Regulation of the rat pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor.

Mol. Pharmacol. 19, 339-405.

Martin, G.B., R.J. Scaramuzzi und J.D. Henstridge (1983):

Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn.

J Endocr. 96, 181-193.

Maruo, T., C.A. Ladines-Lave, T. Samoto, H. Matsuo, A.S. Manalo, H. Ito und M. Mochizuki (1993):

Expression of epidermal growth factor and its receptor in human ovary during follicular growth and regression.

Endocrinology 132, 924-931.

McCann, S.M., S. Taleisnik und H.M. Friedman (1960):

LH-releasing activity in hypothalamic extracts.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 432-434.

McDougall, S. (1994):

Postpartum anoestrus in pasture grazed New Zealand dairy cow.

Vet. Diss., Massey University, Palmerston North

McDougall, S., C.R. Burke, K.L. Macmillan und N.B. Williamson (1995):

Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving.

Research-in-Veterinary-Science 58, 212-216.

McShane, T.M., T. May, J.L. Miner und D.H. Keisler (1992):

Central actions of Neuropeptide Y may provide a neuromodulatory link between nutrition and reproduction.

Biol. Reprod. 46, 1151-1157.

Meng, X., A. Brückmann, D. Graesslin und E. Schallenberger (1998):

Luteinizing hormone isoforms in male cattle.

31th Conference on Physiology and Pathology of Reproduction

München, Proceedings, 5, 41.

Millar, R.P. und J.A. King (1987):

Structural and functional evolution of gonadotropin-releasing hormone.

Int. Rev. Cytol. 106, 149.

Moe, P.W. und J.F. Tyrell (1986):

The physiological bases of nutrient responses during lactation.

Prog. Nutr. Soc. 45, 125-130.

Moenter, S.M., A. Cararty, A. Locatelli und F.J. Karsch (1991):

Pattern of gonadotropin releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge.

Endocrinology 129, 1175-1182.

Moss, G.E., M.E. Crowder und T.M. Nett (1981):

GnRH receptor interaction. VI effect of progesterone and estradiol on hypophysal receptors for GnRH and serum and hypophyseal concentrations of gonadotropins in ovariectomized ewes. Biol. Reprod. 25, 938-944.

Murphy, M.G., W.J. Enright, M.A. Crowe, K. Mc Connell, L.J. Spicer, M.P. Boland und J.F. Roche (1991):

Effects of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers.

J.Reprod. and Fert. 2, 333-338.

Muschik, R. (1979):

Saprophytär-bakterielle Stoffwechselprodukte in der UHT-Milch zur Beurteilung der bakteriologisch-hygienischen Wertigkeit des verwendeten Ausgangssubstrates.

Agr. Diss. Christian-Albrechts-Universität Kiel

Müller, M. (1988):

Vorkommen und Beeinflussung von Phosphoenolpyruvat in der Milch von SB Kühen.

Vet. Diss. Tierärztliche Hochschule Hannover

Naylor, A.M., D.W.F. Porter und D.W. Lincoln (1989):

Inhibitory effect of central LHRH on LH secretion in the ovariectomized ewe.

Neuroendocrinology 49, 531-536.

Nebel, R.L. und M.L. McGilliard (1993):

Interaction of high milk yield and reproductive performance in dairy cows.

J. Dairy Sci. 76, 3257-3268.

Neill, J.D., P.F. Smith, E.H. Luque, M. Munoz de Toro, G. Nagy und J.J. Mulchahey (1987):

Detection and measurement of hormone secretion from individual pituitary cells.

Recent Prog. Horm. Res 43, 175-218.

Nett, T.M. (1987):

Function of the hypothalamic-hypophyseal axis during the post partum period in ewes and cows.

J. Reprod. and Fert. (Suppl) 34, 201-213.

Nett, T.M., D. Cermak, T. Braden, J. Manns und G. Niswender (1988):

Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II.Changes during the postpartum period.

Domestic Animal Endocrinology 5, 81-89.

Nett, T.M., D. Cermak, T. Braden, J. Manns und G.D. Niswender (1987):

Pituitary receptors for GnRH and Estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows.I. Changes during the estrous cycle.

Dom. Anim. Endocrinology 4, 123-132.

Nett, T.M., M.E. Crowder, G.E. Moss und T.M. Duello (1981):

GnRH receptor interaction V: Down regulation of pituitary receptors for GnRH in ovariectomized ewes by infusion of homologous hormone.

Biol. Reprod. 24, 1145-1155.

Nikolics, K., J.M. Lakoshi, J.R. Oerez-Polo und D.K. Rassin (1988):

Neural control of reproductive function.

Proceedings of the fifth Galveston Neuroscience Symposium: Biosynthesis of gonadotropin-releasing hormone in mammalian brain. 243-254.

Orsted, K.M. und H.G. Spies (1987):

Inhibition of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release by endogenous opioid peptides in the female rabbit.

Neuroendocrinology 46, 14-29

Otto, K.L., J.D. Ferguson, D.G. Fox und C.J. Sniffen (1991):
Relationship between BCS and composition of ninth to eleventh rib tissue in Holstein dairy cows.

J. Dairy. Sci. 74, 852-859.

Peter, R.E., H.R. Habibi, T.A. Marchant und C.S. Nahorniak (1987):
Vertebrate gonadotrophin-releasing hormones: Phylogeny and structure-function relationships.

Annals-of-the-New-York-Academy-Of-Science 519, 299-309.

Peters, A.R., M.G. Pimentel und G.E. Lamming (1985):
Hormone response to exogenous GnRH pulses in post-partum dairy cows.

J. Reprod. and Fert. 75. 557-565.

Pierce, J.C. und T.F. Parsons (1981):
Glycoprotein hormones:structure and function.

Annu. Rev. Biochem. 50, 465-495.

Pope, G.S. (1982):
Oestrogens and progesterone in Plasma and milk of postpartum dairy cattle.
In Factors influencing fertility in the postpartum cow, E. Schallenberger and H. Karg,
Martinus Nijhoff Publishers, The Hague/Boston/London, 248-276.

Rajamahendran, R. und C. Taylor (1991):
Follicular dynamics and temporal relationships among body temperature, oestrus, the surge of luteinizing hormone and ovulation in Holstein heifers treated with norgestomet.

J. Reprod. and Fert. 92, 461-470

Randel, R.D. (1990):
Nutrition and postpartum rebreeding in cattle.

J. Anim. Sci. 68, 853-862.

Rasby, R.J., R.P. Wetteman, P.G. Harms, K.S. Lusby und J.J. Wagner (1992):
GnRH in the infundibular stalk-median eminence is related to percentage body fat in carcass
of beef cows.

Dom. Anim. Endocrinology 9, 71-76.

Robinson, J.E. (1995):

Gamma amino-butyric acid and the control of GnRH secretion in sheep.

J. Reprod. and Fert. (Suppl) 49, 221-230.

Roche, J.F., M.A. Crowe und M.P. Boland (1992):

Postpartum anoestrus in dairy and beef cows.

Anim. Reprod. Sci. 28:371-378.

Roche, J.F. und M. Diskin (1994):

Hormonal regulation of reproduction and interactions with nutrition in ruminants.

Proc. Soc. Nutr. Physiol. 3, 245-251

Ryan, D.P., R.A. Spoon, M.K. Griffith und G.L. Williams (1994):

Ovarian follicular recruitment, granulosa cell stereogenic potential and growth
hormone/insulin-like growth factor 1 relationships in suckled beef cows consuming high lipid
diets: Effects of graded differences in body condition maintained during the puerperium.

Dom. Anim. Endocrinology 11, 161-174.

Savio, J.D., M.P. Boland, N. Hynes und J.F. Roche (1994):

Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows.

Dom. Anim. Endocrinology 88, 569-579.

Savion, N., G.M. Lui, R. Laherty und D. Gospodurowicz (1981):

Factors controlling proliferation and progesterone production by bovine granulosa cells in
serum free medium.

Endocrinology 109, 409-420.

Schallenberger, E. (1987):

Charakterisierung von Sekretionsrhythmen der Gonadotropine und Ovarsteroiden während des Brunstzyklus, der Gravidität und post partum beim Rind.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Schallenberger, E., U. Oerterer und G. Hutterer (1982):

Neuroendocrine regulation of postpartum function.

In Factors influencing fertility in the postpartum cow, H. Karg and E. Schallenberger, Martinus Nijhoff, The Hague/Boston/London, 123-147.

Schallenberger, E. und S. Prokopp (1985):

Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. IV. Re-establishment of the stimulatory feedback action of oestradiol-17-beta on LH and FSH.

Acta endocrinologica 109, 44-49.

Schallenberger, E., D. Schams, B. Bullermann und D.L. Walters (1984):

Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during prostaglandin-induced regression of the corpus luteum in the cow.

J. Reprod. and Fert. 71, 793

Schallenberger, E., A.M. Schöndorfer und D.L. Walters (1985):

Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. I. Pulsatile changes of concentration in the jugular vein throughout the oestrous cycle.

Acta endocrinologica 108, 312-321.

Schally, A.V., A. Arimura, Y. Baba, R.M.G. Nair, H. Matsuo, T.W. Redding und L. Debeljuk (1971):

Isolation and properties of the FSH and LH-releasing Hormone.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 43:393-399.

Schirar, A. und J. Martinet (1982):

Postpartum ovarian activity and its interaction with the uterus in resuming cyclic activity post partum.

In Factors influencing fertility in the postpartum cow, H. Karg and E. Schallenberger, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague/Boston/London,. 67-94.

Schmid, G., M. Rüsse und R. Bambauer (1989):

Untersuchung zur Ätiologie der stillen Brunst beim Milchrind.

Wiener Tierärztliche Wochenschrift 76, 85,88-89.

Schneider, P., R. Bauer, D. Schlünsen, K. Nogai, J. Ehlers und H.-U. Wiesner (1998):

Beurteilung unterschiedlicher Milchparameter zur Früherkennung von Stoffwechselstörungen- ein Modellversuch.

Milchwissenschaft 44, 150-155.

Schopper, D., R. Schemer, U. Weiler und R. Claus (1993):

Einfluß der Milchleistung auf Fruchtbarkeitskriterien der Milchkuh post partum: Auswertung von Progesteronprofilen.

Reprod. Dom. Anim. 28, 225-235.

Schvartz, I. und E. Hazum (1985):

Tunicamycin and neuraminidase effects on luteinizing hormone (LH)-releasing hormone binding and LH-release from rat pituitary cells in culture.

Endocrinology (Baltimore) 116, 2341-2346.

Senatore, E.M., W.R. Butler und P.A. Oltenacu (1996):

Relationships between energy balance and post partum ovarian activity and fertility in first lactating dairy cows.

Animal Science 62, 17-23.

Shahab, M., K.D. Nusser, J.L. Peters und D.R. Deaver (1995):

Involvement of N-methyl-D-aspartate receptor using excitatory amino acid neurotransmitters in control of pulsatile secretion of LH during sexual development in Holstein bull calves.

J. Reprod. and Fert. 105, 77-83.

Short, R.E., R.A. Bellows, R.B. Staigmiller, J.G. Berardinelli und E.E. Custer (1990):

Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cows.

J. Anim. Sci. 68, 799-816.

Silverman, A.-J. (1988):

The gonadotrophin-releasing hormone(GnRH) neuronal systems: immunocytochemistry.

In: The Physiology of Reproduction, E. Knobil and J.D. Neill, Raven Press, New York, 1283-1304.

Silverman, A.-J., J.W. Witkin, R.C. Silverman und M.J. Gibson (1990):

Modulation of gonadotropin-releasing hormone neuronal activity as evidenced by uptake of fluorogold from the vasculature.

Synapse 6, 154-160.

Skinner, D.C., B. Malpoux, B. Delaleu und A. Caraty (1995):

Luteinizing hormone (LH)-releasing hormone in third ventricular cerebrospinal fluid of the ewe: Correlation with LH pulses and the LH surge.

Endocrinology 136, 3230-3237.

Smith, R.D., A.J. Pomerantz, W.E. Beal, J.P. McCann, T.E. Pilbeam und W. Hansel (1984):

Insemination of Holstein heifers at a preset time after oestrus cycle synchronisation using progesteron and prostaglandin.

J. Anim. Sci. 58, 792-800.

Spicer, L.J., W.B. Tucker und G.D. Adams (1990):

Insulin-like growth factor-1 in dairy cows: Relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior.

J. Dairy Sci. 73, 929-937.

Stahlhut-Klipp, H. und J. Rojahn (1987):

Untersuchung zum Gehalt und zur Bedeutung von Phosphoenolpyruvat in der Rohmilch.
Deutsche Milchwirtschaft 28, 978-984.

Staples, C.R., W.W. Thatcher und J.H. Clark (1990):

Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows.

J. Dairy Sci. 73, 938-947.

Staufenbiel, B. (1989):

Experimentelle Untersuchungen zur Beurteilung der Energiebilanz der Milchkuh.

Vet.Diss. Humboldt-Universität, Berlin.

Staufenbiel, R. (1993):

Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Messung der Rückenfettdicke und der Untersuchung von Fettgewebe.

Vet. Habil. Freie-Universität, Berlin

Staufenbiel, R., J. Langhans, J. Bauer, D. Dargel, N. Rossow, und G. Leuthold (1989):

Untersuchungen zur Beurteilung der postpartalen Energiebilanz der Milchkuh.

Monatshefte der Veterinärmedizin 44, 594-598.

Stevenson, J.S. und J.H. Britt (1979):

Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows.

J. Anim. Sci. 48, 570-577.

Stoebel, D.P. und G.P. Moberg (1982):

Repeated acute stress during follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers.

J. Dairy Sci. 65, 92-97.

Thatcher, W.W., M. Drost, J.D. Savio, G.R. Macmillan, K.W. Entwistle, E.J. Schmitt, R.L.d.

Sota und G.R. Morris (1993):

New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle.

Anim. Reprod. Sci. 33, 27-49.

Thind, K.K. und P.C. Goldsmith (1988):

Infundibular gonadotropin-releasing hormone neurons are inhibited by directed opioid autoregulatory synapses in juvenile monkey.

Neuroendocrinology 47, 203-216.

Vailes, L.D., S.P. Washburn und J.H. Britt (1992):

Effects of various steroid milieus or physiological states on sexual behaviour of Holstein cows.

J. Anim. Sci. 70, 2094-2103.

Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, R.S. Emery, L.T. Chapin und R.L. Fogwell (1988):

Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows.

J. Dairy Sci. 71, 1063-1072.

Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, E.P. Stanisiewski und R.L. Fogwell (1990):

Influence of energy balance and body condition on estrous and estruos cycles in Holstein heifers.

J. Dairy Sci. 73, 2759-2765.

Walters, D.L., D. Schams und E. Schallenberger (1984):

Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the lutealphase of the oestrous cycle in the cow.

J. Reprod. and Fert. 71, 479-491.

Wang, Q.F., P.G. Farnworth, J.K. Findlay und H.G. Burger (1988):

Effect of 31K bovine inhibin on the specific binding of gonadotropin-releasing hormone to rat anterior pituitary cells in culture.

Endocrinology 123, 2161-2166.

- Wang, Q.F., P.G. Farnworth, J.K. Findlay und H.G. Burger (1989):
Inhibitory effect of pure 31-kilodalton bovine inhibin on gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-induced up-regulation of GnRH binding sites in cultured rat anterior pituitary cells.
Endocrinology (Baltimore) 124, 363-368.
- Webb, R., J.G. Gong und T.A. Bramley (1994):
Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicular development in cattle.
Theriogenology 41, 25-30.
- Whisnant, C.S., T.E. Kiser, F.N. Thompson und C.R. Barb (1986):
Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion during the post partum period in suckled beef cows.
J Anim Sci 63, 1445-1448.
- White, S.A., C.T. Bond, R.C. Francis, T.L. Kasten, R.D. Frenald und J.P. Adelman (1994):
A second gene for GnRH: cDNA and expression pattern in the brain.
Proceedings-of-the-National-Academy-of-science-of-the-United-states 91, 1423-1427.
- Wildman, E.E., G.M. Jones, P.E. Wagner, R.L. Boman, H.F. Troutt und T.N. Lesch (1982):
A dairy cow body condition system and its relationship to selected production characteristics.
J. Dairy Sci. 65, 495-501.
- Wildt, L., A. Hausler, G. Marshall, J.S. Hutchison, T.M. Plant, P.E. Belchetz und E. Knobil (1981):
Frequency and amplitude of gonadotropin-releasing hormone stimulation and gonadotropin secretion in the rhesus monkey.
Endocrinology 109, 376-385.
- Williams, G.L., O.S. Gazal, G.A. Guzman Vega und R.L. Stanko (1996):
Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow.
Anim. Reprod. Sci. 42, 289-297.

Wray, S. und G. Hoffmann (1997):

A developmental study of the quantitative distribution of LHRH neurons within the central nervous system of postnatal male and female rats.

Comp. Neurol. 252, 522-531.

Wray, S., A. Nieburgs und S. Elkabes (1989):

Spatiotemporal cell expression of luteinizing hormone-releasing hormone in the prenatal mouse: evidence for an embryonic origin in the olfactory placode.

Dev. Brain Res. 46, 309-318.

Young, J.W. (1977):

Gluconeogenesis in cattle: Significance and methodology.

J. Dairy Sci. 60, 1-15.

Zhang, T., K. Iguchi, T. Mochizuki, M. Hoshino, C. Yanaihara und N. Yanaihara (1990):

Gonadotropin-releasing hormone associated peptide immunoreactivity in bovine colostrum.

Proceedings-of-the-Society-for-Experimental-Biology-and-Medicine 194, 270-273.

Lebenslauf

Name	Hermann Anton <u>Josef</u> Bergmann
29.04.63	Geboren als Sohn von Josef Bergmann und Marianne Bergmann, geborene Kaiser, in Offenbach am Main.
01.08.69	Einschulung in die Geschwister-Scholl-Schule in Mühlheim/ Main Dietesheim.
01.08.73	Übertritt in das Franziskaner-Gymnasium Kreuzburg in Großkrotzenburg.
03.06.82	Abiturprüfung am Franziskaner-Gymnasium Kreuzburg mit Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife.
02.11.82	Antritt des Zivildienstes am Stadtkrankenhaus Offenbach am Main.
29.02.84	Ende des Zivildienstes.
23.10.84-15.10.86	Studium der Philosophie an der Justus Liebig Universität in Giessen.
15.10.86-30.09.87	Studium der Volkswirtschaftslehre an der Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt am Main.
12.10.87-15.06.93	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin mit abgeschlossenem Staatsexamen.
15.06.93-15.09.94	Hospitanz in verschiedenen Praxen in England und Deutschland.
Seit dem 15.09.94	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Freien Universität am Fachbereich Veterinärmedizin, Arbeitsgruppe Bestandsbetreuung und Qualitätsmanagement.

Danksagung

Marianne und Josef Bergmann	Meinen Eltern danke ich für die allzeit klaglose Finanzierung ihres teuersten Hobbies.
Prof. Dr. W. Heuwieser	Ihm verdanke ich nicht nur die klare Themenstellung, sondern vor allem eine von schneller, engagierter und konstruktiver Kritik bestimmten Betreuung und, ganz wichtig, perfekte Motivation zum exakt richtigen Zeitpunkt.
Dr Fischer, Frau Andert Frau Riemann und Frau Franke	Dem Team der Lehr- und Versuchsanstalt in Iden bin ich für die offene und vorbehaltlose Kooperationsbereitschaft zu besonderem Dank verpflichtet.
Prof.Dr. Schallenberger Dr.Brückmann Evelyn Steinwender Xiangbin Meng	Ohne die außerordentlich freundliche Arbeitsathmosphäre im Hormonlabor am Institut für Tierzucht und Tierhaltung der CAU in Kiel wäre diese Arbeit nicht nur in dieser Form nicht möglich gewesen, sondern hätte auch nur halb soviel Spaß gemacht.
Frau Forderung Frau Birkelbach	Ihnen danke ich für die Unterstützung bei der Bestimmung und Auswertung der Steroidhormone.
Prof. Dr. Stahlhut-Klipp	Ihm bin ich für die Unterstützung bei der Milchprobenanalyse sehr dankbar. Außerdem schätze ich seine Geduld bezüglich der Auswertung der Ergebnisse sehr.
Cordula Stahl und das Melkstandteam	Zweifellos wirkte sich die hektische Milchprobennahme nicht unbedingt positiv auf die Arbeit im Melkstand aus. Für den gezeigten Langmut bin ich sehr zu Dank verpflichtet.
Susanne Dahms	Für die freundliche und sorgfältige Unterstützung bei der statistischen Datenaufbereitung sei hier herzlich gedankt.
Marc Drillich Dr. B.-A. Tenhagen	Ohne die stets signalisierte und gewährte Hilfsbereitschaft und das geduldige Korrekturlesen wäre diese Arbeit noch später beendet worden.
Friederike Bechem Leonard Bechem	Dank für Nachsicht und Verständnis und vor allem für ein unvergleichliches Lachen.
Firma Intervet	Wie danken für das großzügige Überlassen der in der Untersuchung verwendeten Arzneimittel.