

**Aus der Nutztierklinik des Tierklinikums
- Abteilung Innere Medizin und Chirurgie -
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Multizentrische Studie zur Injektion von
Cholecalciferol ante partum als Hypocalcämieprophylaxe
bei pluriparen Milchkühen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

Frauke Fokken

Tierärztin aus Leer

Berlin 2024

Journal-Nr.: 4471

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler

Erste/r Gutachter/in: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel

Zweite/r Gutachter/in: Univ.-Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach

Dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. Marc Drillich

Deskriptoren (*nach CAB-Thesaurus*):

dairy cows, hypocalcaemia, prophylaxis, cholecalciferol, injection, blood samples, prepartum period

Tag der Promotion: 02.10.2024

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	X
Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Physiologie der Calciumhomöostase	3
2.1.1 Parathormon.....	3
2.1.2 1,25-Dihydroxycholecalciferol	4
2.1.3 Calcitonin.....	7
2.1.4 Serotonin	7
2.2 Peripartale Hypocalcämie	8
2.2.1 Ätiologie.....	8
2.2.2 Risikofaktoren.....	9
2.2.3 Klinik und Behandlungskonzepte	11
2.2.4 Wirtschaftliche Relevanz	13
2.3 Konzepte zur Hypocalcämieprävention	14
2.3.1 Calciumrestriktive Fütterung und Einsatz von Calciumbindern.....	15
2.3.2 Orale und parenterale Calciumgabe um die Kalbung.....	16
2.3.3 Einsatz anionischer Salze in der Vorbereiterfütterung.....	18
2.3.4 Applikation von Cholecalciferol und seinen Metaboliten ante partum.....	21
2.4 Zielsetzung der Arbeit.....	26
3 Versuchstiere, Material und Methoden	27
3.1 Versuchstiere und Betriebe	27
3.1.1 Allgemeine Betriebsdaten.....	27
3.1.2 Transitkuhmanagement	29
3.2 Versuchsdesign.....	31
3.2.1 Gruppeneinteilung und Behandlung der Tiere.....	31

3.2.2	Metricheck.....	32
3.3	Probenentnahme und -analyse.....	33
3.3.1	Blutproben.....	33
3.3.2	Futterproben.....	37
3.4	Datenerhebung und statistische Auswertung.....	37
4	Ergebnisse.....	40
4.1	TMR-Analyse der Trockensteherration.....	40
4.2	Abkalbungen, Trächtigkeitsdauer, Behandlungstag	42
4.3	Totgeburten, Kalbeverlauf, klinische Hypocalcämie und Retentio secundinarum.....	43
4.4	Blutproben	45
4.4.1	Calcium, Phosphor und Magnesium	45
4.4.2	Cholecalciferolmetaboliten.....	47
4.4.3	Progesteron und Östradiol.....	50
4.5	Metricheck	52
4.6	Milchmenge	52
4.7	Güstzeit.....	53
4.8	Abgangsrate	54
5	Diskussion.....	56
5.1	TMR-Analyse der Trockensteherrationen.....	60
5.2	Einfluss der Cholecalciferol-Injektion ante partum.....	61
5.2.1	Peripartale Serumdynamik von Calcium, Phosphor und Magnesium	61
5.2.2	Totgeburtenrate, Kalbeverlauf, Inzidenz klinischer Hypocalcämie.....	66
5.2.3	Retentio secundinarum und Metritis fünf bis zehn Tage post partum	68
5.2.4	Progesteron- und Östradiol-Werte vor der Kalbung	71
5.2.5	Serumdynamik der Cholecalciferolmetaboliten	72
5.2.6	Milchmenge in den ersten fünf Milchleistungsprüfungen post partum	79
5.2.7	Güstzeit und Abgangsrate	80
5.3	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	80

6	Zusammenfassung	83
7	Summary.....	85
8	Literaturverzeichnis	87
	Anhang	111
	Danksagung.....	113
	Finanzierungsquellen.....	115
	Selbstständigkeitserklärung.....	116

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.	Strukturformeln von Ergo- und Cholecalciferol nach Schenck und Kolb (1990)	5
Abbildung 2.	Schematische Darstellung des Zeitpunktes der Behandlung, der Blutprobenentnahmen und der Beurteilung des Vaginalsekrets	31
Abbildung 3.	Boxplots der Variation der Trächtigkeitsdauer aller in die Studie aufgenommenen Tiere (n = 446), aufgetragen nach Betrieben (n = 11)	43
Abbildung 4.	Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die Serum-Konzentrationen von Calcium (A), Phosphat (B) und Magnesium (C) in mmol/l in den ersten drei Tagen p.p. bei pluriparen Milchkühen (n = 95; Behandlung = 49; Kontrolle = 46)	46
Abbildung 5.	Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf die Serum-Konzentration von Cholecalciferol (A), 25OHD ₃ (B) und 24,25(OH) ₂ D ₃ (C) in ng/ml fünf Tage ante und drei Tage post partum bei pluriparen Milchkühen (n = 30, Behandlung = 15; Kontrolle = 15; * markiert einen signifikanten Unterschied)	48
Abbildung 6.	Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf die Serum-Konzentration von 1,25(OH) ₂ D ₃ in pg/ml fünf Tage ante und drei Tage post partum bei pluriparen Milchkühen (n = 30, Behandlung = 15; Kontrolle = 15; * markiert einen signifikanten Unterschied)	49
Abbildung 7.	Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Progesteron-Konzentration zwei Tage nach der Injektion von 10 Mio I.E. Cholecalciferol bzw. 10 ml NaCl 0,9% und dem Betrieb als Boxplots (n = 38, Behandlung = 19, Kontrolle = 19)	50

Abbildung 8.	Darstellung des Effektes der Laktationsnummer auf die Östradiol-Konzentration zwei Tage nach einer Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung sieben Tage vor der errechneten Kalbung in Form von Boxplots (n = 38, Behandlung = 19, Kontrolle = 19).....	51
Abbildung 9.	Darstellung der mit Hilfe des Metrichcek 5 bis 10 Tage p.p. ermittelten Metritis Scores von pluriparen Milchkühen, die sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine intramuskuläre Injektion mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung) oder 10 ml 0,9%ige-Natriumchloridlösung (Kontrolle) erhielten (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).....	52
Abbildung 10.	Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die energiekorrigierte Milchleistung in kg der ersten fünf Milchleistungsprüfungen p.p. bei pluriparen Milchkühen (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).....	53
Abbildung 11.	Darstellung der Kaplan-Meier-Analyse des Effektes einer Behandlung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die Güstzeit bis 200 Tage in Milch bei pluriparen Milchkühen (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).	54
Abbildung 12.	Darstellung der Kaplan-Meier-Analyse des Effektes einer Behandlung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf das Merzungsrisiko innerhalb der ersten 300 Laktationstage bei pluriparen Milchkühen (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.	Übersicht über die allgemeinen Betriebsdaten	28
Tabelle 2.	Haltung und Fütterung der trockenstehenden Kühe in den letzten sechs bis acht Wochen vor der Kalbung	30
Tabelle 3.	Ergebnisse der TMR-Analyse der Trockensteher-/ Vorbereiterrationen.....	41
Tabelle 4.	Übersicht Kalbungen, Trächtigkeitsdauer und Zeitpunkt der Behandlung im Dokumentationszeitraum	42
Tabelle 5.	Charakterisierung von Kontroll- und Behandlungsgruppe.....	44
Tabelle 6.	Futtermittelanalyse – Untersuchungsparameter	111

Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferol
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-Dihydroxycholecalciferol
25OHD ₃	25-Hydroxycholecalciferol
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HTP	5-Hydroxy-L-Tryptophan
a.p.	ante partum
ADF	acid detergent fiber
aNDF	neutral detergent fiber
BCS	body condition score
BP	Blutprobe
CaSR	calcium-sensing receptor
CYP11A1	Cytochrom P450 Subtyp 11A1, Cholesterin-Monooxygenase
CYP17A1	Cytochrom P450 Subtyp 17A1, 17 α -Hydroxylase
CYP24A1	Cytochrom P450 Subtyp 24A1, 24-Hydroxylase
CYP27A1	Cytochrom P450 Subtyp 27A1, 25-Hydroxylase
CYP27B1	Cytochrom P450 Subtyp 27B1, 1 α -Hydroxylase
DBP	Vitamin D-Bindungsprotein
DCAB	dietary cation-anion balance
DCAD	dietary cation-anion difference
EIA	Enzymimmunoassay
FGF23	fibroblast growth factor 23
HPLC	high performance liquid chromatography
KGW	Körpergewicht
mEq	Milliequivalent
MS/MS	Tandem-Massenspektroskopie
n	Anzahl der Tiere
NCX	Natrium-Calcium-Austauscher
nm	Nanometer
OPG	osteoblast-derived soluble decoy receptor Osteoprotegerin
<i>P</i>	Signifikanzniveau
p.p.	post partum
P _i	anorganisches Phosphor
PMCA	plasma membrane calcium ATPase, Calcium-ATPase
PTH	Parathormon
PTHrP	parathyroid hormone-related protein

RANK receptor activator of NFκB
RANKLreceptor activator of NFκB-Ligand
rpm..... rounds per minute
RPr..... Rohprotein
RXR Co-Rezeptor Retinoid Rezeptor X
TMR Totale Mischratio
TS Trockensubstanz
U Umdrehungen
VDR Vitamin D-Rezeptor

1 Einleitung

Hypocalcämie ist eine der häufigsten Stoffwechsellstörungen von Milchkühen in der Transitphase. Trotz zahlreicher Konzepte zur Hypocalcämieprophylaxe tritt besonders die subklinische Hypocalcämie bei Milchkühen im Zeitraum um die Abkalbung häufig auf. In einer Studie aus dem Jahr 2017 lag die Inzidenz subklinischer Hypocalcämie (Serum-Ca-Konzentration $< 2,0$ mmol/l) bei deutschen Milchkühen ab der dritten Laktation innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Kalbung bei knapp 50% (Venjakob et al. 2017). Häufig werden verschiedene Konzepte der Hypocalcämieprophylaxe miteinander kombiniert, um den Anteil hypocalcämischer Tiere in der Herde weiter zu verringern und mögliche synergistische Effekte zu nutzen.

In einer Studie aus dem Jahr 2021 wurde die intramuskuläre Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol mit der Fütterung einer Vorbereitration mit negativer dietary cation-anion balance (DCAB) als Hypocalcämieprophylaxe kombiniert (Venjakob et al. 2022). Dabei zeigte sich in der Behandlungsgruppe ein deutlicher, positiver Effekt auf die Ca-Konzentration innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Kalbung. Bei Analyse der ersten Milchleistungs- und Reproduktionsdaten wurde jedoch in der Behandlungsgruppe eine verringerte Milchleistung in den ersten beiden Milchleistungsprüfungen und eine höhere Inzidenz von Retentio secundinarum (Nachgeburtverhalten) und Metritis (Gebärmutterentzündung) festgestellt.

Ziel der vorliegenden Studie war es, bei Betrieben mit einer positiven DCAB (≥ 0 mEq/kg TS) in der Vorbereitfütterung den Einfluss einer Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol ca. fünf Tage vor der erwarteten Kalbung auf die Milchproduktion und das Auftreten von Retentio secundinarum und Metritis in der nachfolgenden Laktation zu untersuchen. Die zu überprüfende Hypothese war, dass bei Milchkühen, die in der Trockenstehphase mit einer positiven DCAB gefüttert werden, eine Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol keinen negativen Effekt auf die Milchleistung und die Inzidenz von Retentio secundinarum sowie Metritis hat.

Zu diesem Zweck wurde auf elf konventionellen Milchviehbetrieben 446 trockenstehenden Milchkühen etwa fünf Tage vor dem errechneten Kalbetermin 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (10 ml, Ursovit D₃, Serumwerk Bernburg) oder ein Placebo (10 ml Natriumchlorid 0,9%, B.Braun Melsungen AG) injiziert. Um die Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die peripartale Serum-Ca-Konzentration zu untersuchen, wurden bei einer Stichprobe von 95 Tieren jeweils Blutproben an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung genommen. Bei 38 Tieren wurde zusätzlich zwei Tage nach der Cholecalciferol-Injektion eine weitere Blutprobe entnommen, um den Effekt der Behandlung auf Progesteron, Östradiol und die Cholecalciferol-Metaboliten zu untersuchen. Der Geburtsverlauf, das Auftreten von

Zwillingen, Totgeburten, Retentio secundinarum und klinischer Hypocalcämie (Festliegen) wurde dokumentiert. Bei allen Tieren wurde fünf bis zehn Tage post partum (p.p.) Vaginalsekret gewonnen, um das Auftreten von Metritiden zu untersuchen. Auch die Milchleistung, Fruchtbarkeitsparameter und Merzungen wurden erfasst, um den Einfluss der Behandlung auf diese Parameter zu analysieren.

2 Literaturübersicht

2.1 Physiologie der Calciumhomöostase

Calcium (Ca) spielt eine Schlüsselrolle in verschiedenen Stoffwechselprozessen von Säugetieren. Es ist essentiell für die Kontraktilität glatter und quergestreifter Muskelzellen, die Sekretion verschiedener Drüsen, die Neurotransmission und weitere physiologische Prozesse wie etwa die Blutgerinnung (Wilkens et al. 2020). Darüber hinaus ist es als second messenger bei der Kommunikation in der Zelle und zwischen verschiedenen Zellen unerlässlich (Clapham 2007). Aufgrund dieser vielfältigen Funktionen innerhalb des Stoffwechsels ist es wichtig, dass die extrazelluläre Ca-Konzentration innerhalb enger Grenzen reguliert wird. Beim adulten Rind liegt die physiologische Ca-Konzentration des Plasmas zwischen 2,1 und 2,5 mmol/l (Goff 2006). Der extrazelluläre Ca-Pool macht einen kleinen Teil des gesamten Ca des Körpers aus, da Ca zu 99 % im Skelett gespeichert wird (Martens und Deiner 2016). Das extrazelluläre Ca besteht nur etwa zur Hälfte aus physiologisch aktivem ionisiertem Calcium (Ca^{2+}). Die übrigen 50 % liegen proteingebunden oder komplexiert vor (Ramasamy 2006). Die Regulation des Ca-Homöostase unterliegt im Wesentlichen den drei Hormonen Parathormon (PTH), 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) und Calcitonin (Goff et al. 1991b, Ramasamy 2006).

2.1.1 Parathormon

Eine Erniedrigung der Blut-Ca-Konzentration wird durch den calcium-sensing receptor (CaSR) in der Nebenschilddrüse, in der PTH synthetisiert und gespeichert wird, detektiert (Ramasamy 2006). Innerhalb von Minuten wird daraufhin das gespeicherte PTH ins Blut abgegeben (Kumar und Thompson 2011). An den Zielzellen in Niere, Darm und Knochen bindet es an den PTH-Rezeptor (Ramasamy 2006). Dadurch wird in der Niere, v.a. beim Monogastrier, die Ca- und P_i -Resorption erhöht (Greger et al. 1978, Herm et al. 2015). Bei geringfügigem Ca-Defizit im Blut normalisiert sich so häufig bereits die Plasma-Ca-Konzentration, sodass auch die PTH-Sekretion auf das Basalniveau zurückkehrt. Bei Wiederkäuern scheint dies jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen (Herm et al. 2015). Ein stärkerer Ca-Abfall führt hingegen zu einer anhaltenden PTH-Sekretion, wodurch die Ca-Resorption aus den Knochen sowie der renale Vitamin D_3 -Metabolismus angeregt werden (Goff et al. 1991b).

Die dauerhaft erhöhte PTH-Plasma-Konzentration induziert die Differenzierung und Reifung von Osteoklasten über das OPG-RANKL-RANK-System (Ben-awadh et al. 2014). Osteoklasten-Vorläuferzellen exprimieren den receptor activator of NF κ B (RANK) auf ihrer Oberfläche (Nakagawa et al. 1998, Hsu et al. 1999). An diesen bindet der receptor activator of NF κ B-Ligand (RANKL), der von durch PTH-aktivierte Osteoblasten gebildet wird. Durch die Bindung fusionieren die Osteoklast-Vorläuferzellen und bilden aktivierte Osteoklasten (Lacey et

al. 1998, Yasuda et al. 1998, Boyle et al. 2003). Dieser Prozess kann durch den osteoblast-derived soluble decoy receptor Osteoprotegerin (OPG) behindert werden. Dabei bindet OPG RANKL, sodass dieses nicht mehr an RANK auf der Oberfläche der Osteoklasten-Vorläuferzellen binden kann. In der Folge werden diese nicht mehr aktiviert (Lacey et al. 1998, Wilkens et al. 2020). Aufgrund dieser Interaktion ist das Verhältnis von Knochenauf- und Knochenabbau also direkt abhängig vom Verhältnis von OPG und RANKL. Eine kontinuierliche PTH- Sekretion ins Blut aktiviert durch Stimulation der RANKL-Sekretion und Hemmung der OPG-Freisetzung (Ma et al. 2001) die Knochenresorption, sodass Ca und P_i aus den Knochen ins Blut freigesetzt werden (Boyle et al. 2003).

Weiterhin stimuliert Parathormon in der Niere die Expression und Aktivität der 1α -Hydroxylase in den Mitochondrien der proximalen Tubuli (Fraser und Kodicek 1973). Dieses Enzym konvertiert 25-Hydroxycholecalciferol (25OHD_3) zum am stärksten biologisch aktiven Vitamin D_3 -Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) (Fraser und Kodicek 1973). Über diesen Weg erhöht PTH indirekt auch die Ca-Resorption im Darm (Goff et al. 1991b).

2.1.2 1,25-Dihydroxycholecalciferol

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entsteht nach zweifacher Hydroxylierung in Leber und Niere aus Cholecalciferol (Vitamin D_3) (Ponchon et al. 1969, Fraser und Kodicek 1973).

Dazu wird 7-Dehydrocholesterol aus dem Futter aufgenommen oder aus anderen Verbindungen im Cholesterolfstoffwechsel synthetisiert und in den Epithelzellen der Haut unter UV-Strahlung in Cholecalciferol umgewandelt (Gaylor und Sault 1964, Hymøller und Jensen 2012). Außerdem wird Cholecalciferol auch standardmäßig in vielen Milchkuh- bzw. Trockensteherrationen zugesetzt (Hymøller und Jensen 2017, NRC 2021). Im Gegensatz zu Cholecalciferol, das im Futter von Rindern kaum originär vorkommt, wird Ergocalciferol (Vitamin D_2) unter UV-Einstrahlung während der Trocknungsphase nach dem Mähen von auf dem welken Grasschnitt wachsenden Pilzen synthetisiert (Richardson und Logendra 1997).

Ergocalciferol und Cholecalciferol haben eine sehr ähnliche chemische Struktur (siehe Abbildung 1). Aus diesem Grund werden beide im Organismus sehr ähnlich metabolisiert und vermitteln eine vergleichbare Wirkung (Döcke 1994). Cholecalciferol steigert die 25OHD_3 -Konzentration im Blut jedoch wesentlich potenter als Ergocalciferol und wirkt auch stärker hypercalcämisch (Trang et al. 1998, Romagnoli et al. 2008, Hymøller und Jensen 2011, Balachandar et al. 2021, Lütke-Dörhoff et al. 2022). Entsprechend ist Ergocalciferol etwa 5 bis 15-fach weniger toxisch als Cholecalciferol (Döcke 1994).

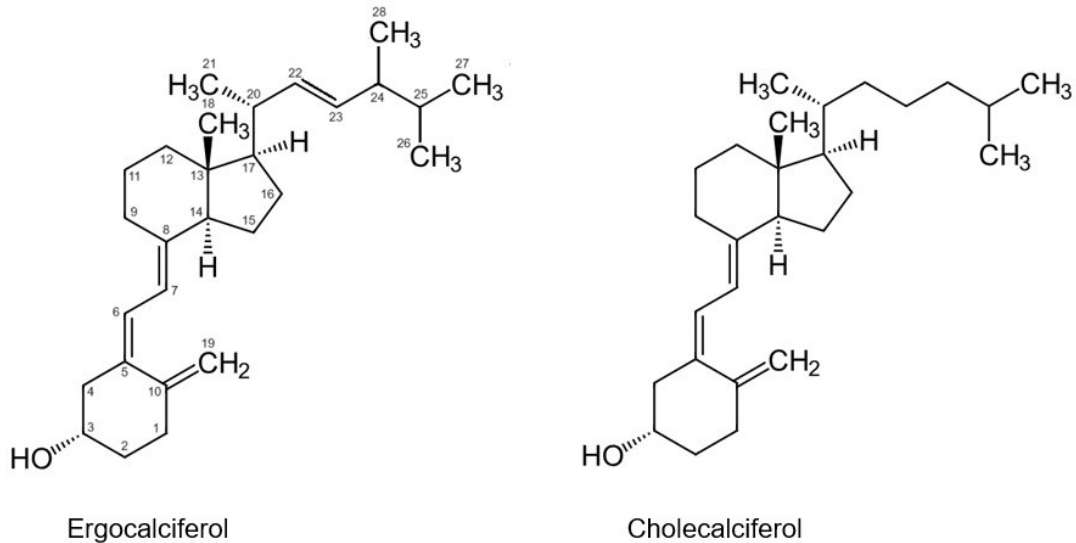


Abbildung 1. Strukturformeln von Ergo- und Cholecalciferol nach Schenck und Kolb (1990)

Ergo- und Cholecalciferol sowie deren Metaboliten liegen im Blut nur zu 1% in der freien Form vor (Powe et al. 2013). Die übrigen 99 % werden proteingebunden im Blut transportiert und haben einen limitierten Zugang zu den Zielzellen (Kochupillai 2008). Etwa 85-90% der proteingebundenen Fraktion sind an Vitamin D-Bindungsproteinen (DBP) gebunden (Powe et al. 2013). Die Bindungsaffinität der Vitamin D-Bindungsproteine nimmt wie folgt ab (das D ohne tiefgestellte Nummer zeigt an, dass die Metaboliten von Ergo- und Cholecalciferol gleichermaßen gemeint sind): $25\text{OHD} \triangleq 24,25(\text{OH})_2\text{D} > 1,25(\text{OH})_2\text{D} > \text{Ergo-/ Cholecalciferol}$ (Tanaka und Deluca 1973). Nur die freien Formen können ungehindert in die Zielzellen diffundieren, werden metabolisiert und vermitteln in der Zielzelle die entsprechende Wirkung (Kochupillai 2008).

Cholecalciferol wird in der Leber zunächst durch Hydroxylierung zu 25OHD_3 umgesetzt (Ponchon et al. 1969). Für diese Hydroxylierung sind verschiedene 25-Hydroxylasen verantwortlich. Bisher sind vorrangig das mitochondriale Enzym Cytochrom P450 Subtyp 27A1 (CYP27A1) sowie die mikrosomalen Enzyme Cytochrom P450 Subtyp 2D25 beim Schwein und Cytochrom P 450 Subtyp 2R1 bei Mensch und Ratte untersucht (Gascon-Barre 2005). Diese 25-Hydroxylasen werden kaum reguliert und sind daher in erster Linie von der Substratverfügbarkeit abhängig (Omdahl et al. 2002, Jones 2008). In vielen Untersuchungen ist daher das Produkt der Hydroxylierung - 25OHD_3 - Marker für eine ausreichende Versorgung des Organismus mit Vitamin D (Hymøller und Jensen 2017).

Der zweite Hydroxylierungsschritt in der Niere durch die 1α -Hydroxylase (Cytochrom P450 Subtyp 27B1, CYP27B1) ist sehr eng durch PTH und Calcitonin aber auch direkt durch

die Ca- und Phosphor (P_i)-Konzentrationen im Plasma sowie durch negative Rückkopplung aufgrund hoher $1,25(OH)_2D_3$ -Konzentrationen reguliert (Goff et al. 1991b, Ramasamy 2006, Christakos et al. 2019). $1,25(OH)_2D_3$ aktiviert außerdem die eigene Metabolisierung, indem es die Expression der 24-Hydroxylase (Cytochrom P450 Subtyp 24A1, CYP24A1) stimuliert (Kutuzova und DeLuca 2004). Dieses Enzym setzt sowohl das Substrat der 1α -Hydroxylase - $25OHD_3$ - als auch das bereits produzierte $1,25(OH)_2D_3$ durch Hydroxylierung an Position 24 in inaktive Metaboliten um (Beckman und DeLuca 2002, Jones et al. 2012). Es wird außerdem durch steigende Ca- und P_i -Konzentrationen im Blut aktiviert und durch PTH inhibiert (Dusso et al. 2005). In einer Studie, in der Schafe über 10 Tage $6 \mu\text{g/kg KGW } 25OHD_3$ oral erhielten, führte der erhöhte $25OHD_3$ -Spiegel im Blut zu einem starken Anstieg der RNA-Expression von CYP24A1, sodass möglicherweise auch $25OHD_3$ die Aktivität der 24-Hydroxylase steigert (Wilkens et al. 2016).

$1,25$ -Dihydroxycholecalciferol induziert die Synthese des fibroblast growth factor 23 (FGF23; Saji et al. 2010). Dieses aus den Knochen stammende Phosphatonin vermindert die $1,25(OH)_2D_3$ -Konzentration im Blut durch Interaktion mit der PTH-Expression und dem Cholecalciferol-Stoffwechsel (Schiavi und Kumar 2004, Krajisnik et al. 2007). Weiterhin bewirkt $1,25(OH)_2D_3$ im Darm, am Knochen und in der Niere einen Ca-Transfer ins Blut. Im Darm wird das Ca bei ausreichender oraler Zufuhr und guter Löslichkeit der Ca-Quelle passiv parazellulär über Tight Junctions zwischen den Darmepithelzellen aufgenommen. Dabei ist ein Ca-Konzentrationsgefälle zwischen dem Darm und der Blutbahn Voraussetzung (Hoenderop et al. 2005). Bei limitierter Zufuhr über die Nahrung oder gesteigertem Ca-Bedarf ist jedoch ein aktiver, Cholecalciferol-abhängiger Transport durch die Darmepithelzellen erforderlich (Bronner et al. 1986, Goff 2014). $1,25$ -Dihydroxycholecalciferol diffundiert apikal in die Zelle und bindet an den Vitamin D-Rezeptor (VDR), der daraufhin den Co-Rezeptor Retinoid Rezeptor X (RXR) bindet. Zusammen formen sie ein Heterodimer, welches als Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor fungiert (Brown et al. 1999). Dieser Liganden-aktivierte Transkriptionsfaktor bindet an vitamin d responsive elements in den Promotorregionen der Zielgene. Durch Aktivierung der Transkription und Translation verschiedener Gene vermittelt er die Expression der Ca-Kanäle TRPV5 und TRPV6 (Hoenderop et al. 2005). Diese lagern sich in die apikale Membran ein und fungieren als Transporter, die Ca in die Zelle aufnehmen (Hoenderop et al. 1999). Des Weiteren werden die Ca-Bindungsproteine Calbindin D_{9K} und Calbindin D_{28K} sowie eine Ca-ATPase (plasma membrane calcium ATPase (PMCA)) und ein Natrium-Calcium-Austauscher (NCX) exprimiert (Nemere et al. 1991, Bouillon et al. 2003). Während die Ca-Bindungsproteine das Ca innerhalb der Zelle transportieren, dienen PMCA und NCX dazu, basolateral aktiv Ca ins Blut zu pumpen (Wasserman et al. 1966, Carafoli 1991, Hoenderop et al. 2005, Martín-Tereso und Martens 2014). In sehr hohen

Konzentrationen kann auch 25OHD_3 den VDR binden und so die gleiche Wirkung wie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vermitteln (DeLuca et al. 2011). Für eine vergleichbare Wirkung von 25OHD_3 zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist allerdings eine etwa 150-fach höhere Dosis notwendig (Brumbaugh und Haussler 1973).

In der Niere führt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ über den gleichen Mechanismus zu einer verstärkten Expression von Ca-Transportproteinen und dementsprechend zu einer gesteigerten tubulären Ca-Absorption (Hoenderop et al. 2005). Am Knochen interagiert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ähnlich wie Parathormon mit dem OPG-RANKL-RANK-System. Bindet $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ den VDR in Osteoblasten, steigert dies die Expression von RANKL und resultiert in einer Steigerung der Ca-Mobilisation aus dem Knochengewebe ins Blut (Ramasamy 2006).

2.1.3 Calcitonin

Calcitonin, ein Peptidhormon aus 32 Aminosäuren, wird in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet und in Folge einer ansteigenden Ca-Konzentration im Plasma (Hypercalcämie) aus diesen freigesetzt (Pearse 1966, Felsenfeld und Levine 2015). Erfasst wird der Anstieg des Ca durch einen in den C-Zellen exprimierten *calcium-sensing-receptor* (Kantham et al. 2009). Calcitonin senkt den Ca-Spiegel im Plasma durch eine starke Hemmung der Osteoklastenaktivität im Knochen, unterstützt durch eine Steigerung der Ca-Exkretion in der Niere (Horne et al. 1994). Zum Einfluss von Calcitonin auf die Entstehung der Hypocalcämie gibt es widersprüchliche Erkenntnisse. Mehrere Studien konnten bei Tieren mit klinischer Hypocalcämie verminderte Calcitonin-Konzentrationen im Blut nachweisen (Mayer et al. 1975, Hollis et al. 1981, Shappell et al. 1987). Im Gegensatz dazu konnten Rodríguez et al. (2016) zeigen, dass Tiere mit einer moderaten subklinischen Hypocalcämie (Plasma-Ca-Werte zwischen 1,5 und 1,85 mmol/l) im Vergleich zu Tieren mit einer geringgradigen subklinischen Hypocalcämie (Plasma-Ca zwischen 1,88 und 2,13 mmol/l) höhere Calcitonin-Werte im Blut hatten. Anhand dieser Ergebnisse kann vermutet werden, dass der Calcitoninanstieg die PTH-induzierte Aktivierung der Knochenresorption behindert und so eine Verschärfung der Hypocalcämie bedingt.

2.1.4 Serotonin

Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) ist ein Monoamin, welches in Nervenzellen und anderen peripheren Geweben - wie etwa der Milchdrüse - aus L-Tryptophan gebildet wird (Lauder 2004, Laporta et al. 2013 a). Es verstärkt in der Milchdrüse die Bildung eines parathyroid hormone-related protein (PTHrP), welches an den PTH-Rezeptor auf der Oberfläche von Osteoblasten bindet. Durch die Bindung wird die Proliferation von Osteoblasten gehemmt und die Osteoklastenaktivität stimuliert, sodass vermehrt Ca aus den Knochen ins Blut freigesetzt wird (Wysolmerski 2010). Außerdem verstärkt Serotonin den

aktiven Transport von Ca aus dem Blut in die Milchdrüse, indem es die Expression von Ca-ATPasen auf der apikalen Membran der Milchdrüsenzellen steigert (Slater et al. 2018).

In Studien konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung von Milchkühen mit 5-Hydroxy-L-Tryptophan (5-HTP) - einem direkten Vorläufer von Serotonin - ante partum (a.p.) im Vergleich zu Kontrolltieren zu signifikant höheren Ca-Werten nach der Abkalbung führte (Hernández-Castellano et al. 2017, Slater et al. 2018). Laut Wilkens et al. (2020) scheint die Wirkung von Serotonin auf die Ca-Homöostase dabei unabhängig von der Regulation des Ca-Spiegels durch PTH und Cholecalciferol zu sein, da eine peripartale Cholecalciferol-Supplementierung keinen Einfluss auf die Serotonin-Konzentration von Milchkühen hatte (Martinez et al. 2018a). Des Weiteren konnten bei einer intravenösen Behandlung von Milchkühen mit 5-HTP vor der Abkalbung keine Auswirkungen auf die PTH-Konzentration im Blut beobachtet werden (Hernández-Castellano et al. 2017).

2.2 Peripartale Hypocalcämie

2.2.1 Ätiologie

Die peripartale Hypocalcämie der Milchkuh entsteht durch eine Stoffwechselstörung während der Transitphase. Nach der Geburt steigt der Ca-Bedarf sprunghaft an, während die Mechanismen der Gegenregulation, also die erhöhte Ca-Aufnahme aus dem Darm und die gesteigerte Ca-Mobilisation aus den Knochen, meist erst verzögert einsetzen (Wenning und Grünberg 2015, Venjakob und Borchardt 2022). Durch den erhöhten Transfer von Ca aus dem Blut ins Euter zu Beginn der Laktation entwickeln etwa 50% der frischmelken Kühe eine Hypocalcämie (Gesamt-Ca-Konzentration im Plasma < 2.0 mmol/l; (Venjakob et al. 2017)).

Wie oben bereits beschrieben, wird durch den erniedrigten Ca-Spiegel PTH freigesetzt und so die Ca-Mobilisation aus den Knochen aktiviert. Dieses Ca kann in eine schnell verfügbare Fraktion, die aus der Hydrathülle des Knochens stammt, und einen erst verzögert ins Blut abgegebenen Anteil, der durch die verstärkte Osteoklastenaktivität aus der soliden Knochenmatrix freigesetzt wird, eingeteilt werden (Wenning und Grünberg 2015). Während die schnell verfügbare Fraktion, die bei einer adulten Kuh ca. 6-10 g beträgt, schon innerhalb von Stunden akquiriert werden kann (Vagg und Payne 1970), benötigt die Mobilisation aus der Knochenmatrix mehrere Tage (Liesegang et al. 1988). Auch die durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vermittelte gesteigerte Ca-Absorption im Darm führt nur zeitverzögert zu einem Anstieg der Plasma-Ca-Konzentration, da die benötigten Ca-Transporterproteine zunächst durch Transkription und Translation in den Darmepithelzellen gebildet werden müssen (Wilkens et al. 2020).

Die Ca-Menge, die im Körper einer gesunden Milchkuh extrazellulär zirkuliert, liegt bei 8 - 10 g (davon 2,5 - 3 g im Plasma). Während eine trockenstehende Kuh kurz vor der Kalbung

einen Ca-Bedarf von ca. 21 g/Tag hat (Martens und Deiner 2016), steigt der Bedarf nach der Kalbung durch die einsetzende Kolostrum- und später Milchproduktion stark an. Pro Liter Kolostrum werden dann 1,8 - 2,5 g Ca, pro Liter Milch bis zu 1,25 g Ca benötigt (Goff 2014, Khol et al. 2020). Abhängig von der Kolostrummenge bzw. Milchleistung steigt der Bedarf dann sprunghaft auf 30 - 70 g Ca pro Tag an. Dies kann nur durch eine schnelle, effektive Anpassung des Ca-Stoffwechsels erreicht werden. Die oben erläuterte „Latenzzeit“ der den Ca-Spiegel steigernden Mechanismen (Aktivierung des VDR; Transkription und Translation von Ca-Transportproteinen und Aktivierung der Osteoklasten) liefern einen Erklärungsansatz für das erhöhte Hypocalcämierisiko innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Abkalbung (Martín-Tereso und Martens 2014).

2.2.2 Risikofaktoren

Die peripartale Hypocalcämie stellt neben der negativen Energiebilanz sowie metabolischem Stress und systemischer Entzündung einen der wichtigsten Wegbereiter für andere Erkrankungen in der Transitphase dar. Die Entstehung eines peripartalen Ca-Mangels wird aber auch selbst durch prädisponierende Faktoren begünstigt.

Der deutlichste Risikofaktor für Hypocalcämie ist das Alter bzw. die Laktationszahl des Tieres. Erstkalbinnen haben ein deutlich geringeres Risiko peripartal eine klinische Hypocalcämie zu entwickeln. In einer Studie von Venjakob et al. (2017) stieg der Anteil von Kühen mit einer Gesamt-Ca-Konzentration < 2 mmol/l im Serum von 5,7% in der ersten Laktation auf 29% in der zweiten Laktation. In der dritten Laktation waren 49,4% der Milchkühe betroffen. In der vierten oder höheren Laktation konnte bei 60,4% eine Ca-Konzentration unter 2 mmol/l im Serum nachgewiesen werden. Ein ähnlicher Anstieg konnte in dieser Studie auch für Tiere mit klinischer Hypocalcämie beobachtet werden. Der Anteil der Tiere mit klinischer Gebärparese erhöhte sich von 1,4% in der 2. Laktation, auf 5,7% in der 3. Laktation und auf 16,1% in der 4. und höheren Laktationen. Erstkalbinnen zeigten keine klinischen Symptome einer Hypocalcämie.

Für diese Beobachtung gibt es verschiedene Erklärungsansätze: Eine im Alter verminderte Anzahl von PTH-Rezeptoren könnte der Grund für die verzögerte Adaption der Ca-Homöostase bei Mehrkalbinnen sein (Khol et al. 2020). Weiterhin zeigten Studien, dass die Anzahl der VDR im Darm bei Ratten und Kühen mit dem Alter abnehmen, sodass bei älteren Kühen die erhöhte Ca-Absorption aus dem Darm erst verzögert einsetzen könnte (Goff et al. 1988, Horst et al. 1990). Im Knochen sinkt die Anzahl der Osteoblasten bei älteren Tieren und die Knochenumbauvorgänge sind nicht mehr so stark ausgeprägt wie bei jüngeren Kühen, sodass die Anpassungsfähigkeit des Knochens an hypocalcämische Zustände verringert sein könnte (Goff et al. 1991b, Horst et al. 1990). Diese Ansätze beruhen jedoch vorrangig auf

Studien an Labortieren und im biologischen Sinn gelten Milchkühe in den ersten Laktationen noch nicht als alt (Khol et al. 2020). Ein weiterer Grund für das deutlich geringere Risiko klinischer Hypocalcämie von Erstkalbinnen könnte die Kolostrummenge sein, die bei Mehrkalbinnen deutlich höher und entsprechend mit einem stärkeren Ca-Verlust verbunden ist (Venjakob et al. 2017). Dennoch lässt sich der Anstieg des Risikos klinischer Hypocalcämie mit zunehmender Laktationszahl so nicht erklären, da die Kolostrummenge mit steigender Laktationszahl bei Mehrkalbinnen nicht wesentlich ansteigt.

Auch Tiere mit einer sehr hohen Milchleistung oder Tiere, die bereits in vorangegangenen Laktationen an klinischer Hypocalcämie erkrankt sind, haben ein erhöhtes Risiko erneut an klinischer oder subklinischer Hypocalcämie zu erkranken (Oetzel 1988). Gleiches gilt auch für Tiere mit einem hohen (> 3,5) body condition score (BCS) (Heuer et al. 1999).

Weiterhin kann auch die Verfügbarkeit von Magnesium (Mg^{2+}) in der Ration eine Rolle bei der Entstehung von Hypocalcämie spielen. Die PTH-Rezeptoren in Niere, Darm und Knochen benötigen, damit PTH binden und die Signaltransduktion in die Zelle ablaufen kann, Mg^{2+} und ein leicht azidotisches Milieu (Goff 2014). Hypomagnesiämie (Mg^{2+} -Konzentration im Blut < 8 mmol/l) prädisponiert zur hypocalcämischen Gebärpause (Allen und Davies 1981). Einerseits hemmt eine verminderte Mg^{2+} -Konzentration im Blut die Regulationsmechanismen, die den Ca-Spiegel im Blut erhöhen. So hemmt eine Hypomagnesiämie die Freisetzung von PTH und dessen Wirkung an den Zielorganen (Goff 2008), sodass sekundär eine Hypocalcämie entstehen kann (Rayssiguier et al. 1977). Außerdem konnte eine verminderte Umsetzung von $25OH D_3$ zu $1,25(OH)_2 D_3$ beobachtet werden (Payne et al. 1970), da dieser Prozess Mg^{2+} -abhängig ist (Horsting und DeLuca 1969). Andererseits zeigt sich bei erhöhten Mg^{2+} -Konzentrationen im Blut ein direkter Antagonismus zu Ca (Martens und Deiner 2016). Eine erhöhte orale Mg^{2+} -Aufnahme blockiert die Ca-Absorption im Pansen (Oehlschlaeger et al. 2014) und könnte so indirekt zu einer verstärkten intestinalen Ca-Absorption führen (Martens und Deiner 2016). Ebenso kann durch Mg^{2+} -Gabe eine erhöhte renale Ca-Ausscheidung induziert werden (Waterman et al. 1991). Martens und Deiner (2016) sehen in der verminderten Resorption im Pansen und der erhöhten renalen Ausscheidung von Ca eine Störung des Ca-Haushalts, der zu einer Aktivierung der Regulationsmechanismen zur Steigerung des Blut-Ca-Spiegels führt. Sie vermuten, dass dies eine Ursache für die geringere Inzidenz klinischer Hypocalcämie bei Milchkühen ist, deren Ration hohe Mg^{2+} -Gehalte aufweisen.

P_i -reiche Rationen prädisponieren ebenfalls zur Hypocalcämie (Lean et al. 2006). Aktuelle Forschungsergebnisse konnten zeigen, dass eine Reduzierung von P_i in der

Trockensteherration zu erhöhten Ca-Konzentrationen im Blut nach der Abkalbung führt (Cohrs et al. 2018, Keanthao et al. 2021). Diese ist vermutlich durch eine Aktivierung der Mobilisation von Ca und P_i aus den Knochen bedingt, da der Knochenresorptionsmarker CrossLaps bei Tieren, die eine P_i -arme Diät erhielten, gegenüber denen, die phosphatreich gefüttert wurden, erhöht war (Cohrs et al. 2018, Wächter et al. 2022). Gleichzeitig konnte jedoch kein signifikanter Anstieg von $1,25(OH)_2D_3$ beobachtet werden und auch PTH war bei den phosphatarm gefütterten Tieren deutlich geringer als bei der phosphatreich gefütterten Gruppe. Ursachen hierfür könnten entweder eine deutlich erhöhte Sensitivität für PTH oder eine Induktion der Knochenresorption unabhängig von PTH sein (Cohrs et al. 2018). Die genauen Mechanismen der Aktivierung der Knochenresorption durch eine phosphatarme Fütterung sind jedoch noch nicht ausreichend untersucht (Keanthao et al. 2021, Wächter et al. 2022).

2.2.3 Klinik und Behandlungskonzepte

Die klinische Hypocalcämie lässt sich in der Praxis meist mit hoher Sicherheit anhand des Zeitpunktes des Auftretens und des typischen Symptomkomplexes diagnostizieren und anhand des häufig rasch eintretenden Therapieerfolgs nach einer Ca-Infusion überprüfen. Man unterscheidet drei verschiedene Stadien (Constable et al. 2017):

Im ersten Stadium zeigen sich die Tiere nervös, das Gangbild ist unsicher. Futteraufnahme, Wiederkautätigkeit und Kotabsatz sind vermindert. Besonders am Hals und an den Gliedmaßen sind Faszikulationen sichtbar. Bei genauerer Untersuchung lassen sich kalte Akren, eine verminderte Pansenmotilität und ein schwacher, schneller Puls feststellen. Die Stehfähigkeit des Tieres ist noch erhalten (Wenning und Grünberg 2015).

Das zweite Stadium ist durch Festliegen, meist in autoauskultatorischer Haltung (Brustseitenlage), gekennzeichnet (Wenning und Grünberg 2015). Auch das Sensorium kann in dieser Phase bereits beeinträchtigt sein. Die gesamte Körperoberfläche ist kalt und auch die Rektaltemperatur ist erniedrigt (Venjakob et al. 2016). Die Tiere sind häufig leicht tympanisch und setzen aufgrund der reduzierten Motilität des gesamten Magen-Darm-Trakts keinen Kot ab (Wenning und Grünberg 2015).

Im dritten Stadium besteht akute Lebensgefahr (Khol et al. 2020). Die Kühe liegen in komatösem Zustand in Seitenlage fest und zeigen eine schlaffe Lähmung der Gliedmaßen. Puls und Herzschlag sind schwach und schnell (Wenning und Grünberg 2015). Der Pansen wird durch die anhaltende Gasbildung ohne ausgleichenden Ruktus aufgrund der ausbleibenden Motorik stark tympanisch, sodass es zu einem abdominalen Kompartmentsyndrom kommen kann. Dabei kann es durch die übermäßige Druckbelastung

in der Bauchhöhle zu einer Schädigung von Nerven und Muskeln und einer Minderperfusion lebenswichtiger Organe kommen (van Aken et al. 2014).

Die subklinische Form der Hypocalcämie wird häufig durch einen Abfall der Ca-Konzentration im Blut unter den physiologischen Grenzwert von ca. 2,1 mmol/l ohne klinisch sichtbare Symptome definiert. Einen einheitlichen Grenzwert gibt es in der Literatur jedoch nicht. Häufig ist für die subklinische Form auch eine Serum-Konzentration unter 2,0 mmol/l angegeben (Reinhardt et al. 2011, Venjakob et al. 2017). Aktuellere Studien nutzen jedoch auch Werte darüber (2,14 mmol/l; (Couto Serrenho et al. 2021)).

Es gibt verschiedene Behandlungskonzepte für die Therapie der klinischen Hypocalcämie, die abhängig vom jeweiligen Stadium eingesetzt und miteinander kombiniert werden sollten:

Nicht festliegende Tiere im Stadium I sollten nur oral oder subkutan mit Ca behandelt werden, da eine intravenöse Applikation der gängigen Ca-Borogluconatlösungen zu einem starken Anstieg der Blut-Ca-Konzentration führt (Blanc et al. 2014). Dadurch können bei einer Konzentration von 7 bis 8 mmol/l potenziell lebensbedrohliche Arrhythmien auftreten (Littledike et al. 1976). Daher sollte diese Applikationsroute nur unter auskultatorischer Kontrolle der Herzaktivität bei Tieren im Stadium II und III eingesetzt werden. Außerdem wird durch die kurzzeitige, deutliche Steigerung des Ca-Spiegels die PTH-Ausschüttung gehemmt (Braun et al. 2009) und Calcitonin, das den Mechanismen zur Steigerung der Ca-Konzentration im Blut entgegenwirkt, freigesetzt (Goff 1999). Dies kann die Adaption der peripartalen Kuh an den deutlich gestiegenen Ca-Bedarf nach der Abkalbung behindern. Eine orale Gabe zweier Ca-Boli im Abstand von 12 Stunden führte hingegen zu einem moderaten Anstieg der Ca-Konzentration im Blut auf ca. 2,0 mmol/l, der dann aber über einen Zeitraum von ca. 48 Stunden anhielt (Blanc et al. 2014, Domino et al. 2017). In einer Studie von Domino et al. (2017) führte eine subkutane Infusion von Ca innerhalb weniger Stunden zu einer Steigerung der Serum-Ca-Konzentration auf ca. 2,3 mmol/l, bevor sie innerhalb der nächsten 20 Stunden wieder auf 1,75 mmol/l absank.

Festliegende Tiere in Stadium II und III müssen intravenös behandelt werden, um dem Stoffwechsel schnell ausreichend Ca zur Verfügung zu stellen, damit die Tiere aufstehen können. Nur so können die negativen Folgen des Festliegens - wie etwa Nervenschäden und Muskeltraumata - begrenzt werden. Eine orale Ca-Gabe ist kontraindiziert, da das Sensorium der Tiere häufig eingeschränkt ist und so ein normaler Schluckreflex nicht sicher gegeben ist. Eine handelsübliche Ca-Borogluconatlösung (24%, 500 ml) enthält ca. 10 bis 11 g Ca. Diese Menge sollte ausreichen, um eine Kuh mit klinischer Hypocalcämie in Stadium II und III ausreichend mit Ca zu versorgen (Venjakob und Borchardt 2022). Höherprozentige Lösungen,

die bis zu 22 g Ca enthalten können, sind aus den oben bereits erläuterten Gründen eher kontraproduktiv. Es ist sinnvoller, die langfristigeren Effekte der subkutanen bzw. oralen Applikationsrouten nach einer initialen intravenösen Therapie auszunutzen und die Ca-Infusion intravenös mit der Gabe von Ca subkutan oder oral verabreichten Ca-Boli, sofern die Kuh ihre Standfähigkeit und ein ungetrübtes Sensorium zurückerlangt hat, zu kombinieren. Die subkutane Ca-Gabe und die orale Gabe können dem relativ hohen Rezidivrisiko (25 - 38% aller Tiere kommen erneut zum Festliegen) entgegenwirken (Curtis et al. 1987).

2.2.4 Wirtschaftliche Relevanz

Klinische Hypocalcämie ist ein anerkannter Risikofaktor für weitere Erkrankungen wie Labmagenverlagerung, Ketose, Metritis (Gebärmutterentzündung), Retentio secundiarum (Nachgeburtsverhalten) und Mastitis (Euterentzündung) sowie für eine verminderte Milchleistung (DeGaris und Lean 2008). Dennoch sind vom tatsächlichen Festliegen nur ca. 5 % aller Tiere betroffen (Reinhardt et al. 2011), sodass diese Form der Hypocalcämie keinen großen Einfluss auf die Erkrankungen auf Herdenebene bzw. das Produktionsergebnis hat (Wilkens et al. 2020).

Im Gegensatz dazu konnte für die subklinische Hypocalcämie, die - wenn auch weniger auffällig - deutlich häufiger auftritt und bis zu 50 % aller Kühe nach der Geburt betrifft (Reinhardt et al. 2011, Venjakob et al. 2017), ein Einfluss auf die Gesundheit und die Milchleistung auf Herdenebene gezeigt werden. So ist auch die subklinische Hypocalcämie mit Ketose, linksseitiger Labmagenverlagerung und Metritis (Rodríguez et al. 2017, Martinez et al. 2018a, Venjakob et al. 2021) assoziiert und führt zu einer schlechteren Reproduktionsleistung und einem höheren Merzungsrisiko in der Früh-laktation (Martinez et al. 2012, Venjakob et al. 2018).

Die Ursachen für den Zusammenhang von Hypocalcämie und vielen anderen Erkrankungen in der Transitphase beruhen sowohl auf direkten Folgen des Ca-Mangels, wie etwa eine Beeinträchtigung der Funktion von glatter Muskulatur, als auch auf indirekten Auswirkungen, v.a. durch eine negative Beeinflussung des Immunsystems (Venjakob und Borchardt 2021). Hypocalcämische Milchkühe können peripartal eine deutliche Immunschwäche entwickeln (Kimura et al. 2006), die durch eine verringerte Phagozytoseaktivität und einen eingeschränkten respiratory burst (Bekämpfungsstrategie zur Abwehr von Krankheitserregern durch Freisetzung von Sauerstoffradikalen) von neutrophilen Granulozyten gekennzeichnet ist (Martinez et al. 2014). Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass eine reduzierte Verfügbarkeit von Ca durch die peripartale Hypocalcämie zu einer verminderten Reaktivität von Immunzellen führt (Kimura et al. 2006). Diese immunsuppressive Wirkung im Zeitraum um die Geburt macht hypocalcämische Tiere anfälliger

für infektiöse Erkrankungen. So konnten Curtis et al. (1983) zeigen, dass Tiere, die an klinischer Hypocalcämie erkranken, auch häufiger Mastitiden entwickeln. Ein weiterer direkter Faktor für die Entstehung von Mastitiden bei hypocalcämischen Kühen ist die aufgrund des Ca-Mangels beeinträchtigte Funktion der glatten Muskulatur, insbesondere des Zitzensphinkters, sodass dieser die Zitzenzisterne nicht mehr ausreichend verschließt und Krankheitserreger damit leichter eindringen können (Goff 2008). Die mangelhafte Versorgung der Muskulatur mit Ca prädestiniert weiterhin zu Dystokien, Retentio secundinarum und Gebärmuttervorfällen (Correa et al. 1992, Goff 2008, Martinez et al. 2012, Caixeta et al. 2017). Wilhelm et al. (2017) wiesen ein erhöhtes Risiko für Retentio secundinarum bei Tieren mit einem Serum-Ca-Spiegel < 2.0 mmol/l in den ersten zwei Stunden nach der Geburt nach. Außerdem steigt aufgrund der eingeschränkten Immundefunktion und des vermehrten Auftretens von Retentio secundinarum auch das Risiko für das Auftreten von Metritis bei Tieren mit Hypocalcämie in der Transitphase (Martinez et al. 2012, Wilhelm et al. 2017, Neves et al. 2018, Venjakob et al. 2019). Zuletzt ist auch ein Zusammenhang von Hypocalcämie und Labmagenverlagerung denkbar. Es besteht eine negative Assoziation zwischen Hypocalcämie und der Pansen- bzw. Labmagenaktivität im peripartalen Zeitraum (Daniel 1983, Goff et al. 2020). Diese könnte ein Faktor bei der Entstehung von Labmagenverlagerungen sein (Venjakob und Borchardt 2021).

Oetzel (2013) schätzt die Kosten eines Falles von klinischer Hypocalcämie auf US \$ 300; die einer Kuh mit subklinischer Hypocalcämie auf US \$ 125 (ca. 115 €). Wie oben bereits beschrieben, ist der finanzielle Aufwand bei einer festliegenden Kuh aufgrund der Kosten für Behandlung, Nachsorge und Produktionsausfall zwar mehr als doppelt so hoch, dennoch ist der finanzielle Gesamtschaden durch die subklinische Hypocalcämie aufgrund der ca. 10-fach höheren Inzidenz etwa 4-fach höher als der durch klinische Hypocalcämie (Oetzel 2013) und damit sehr viel bedeutsamer. Für einen Betrieb mit 300 Kühen bedeutet dies bei einer Inzidenz von 5% klinischer Hypocalcämie und 40% subklinischer Hypocalcämie Gesamtkosten von ca. 4.000 € für die festliegenden Tiere und ca. 13.800 € Einbußen aufgrund der Folgen von subklinischer Hypocalcämie (Oetzel 2013).

2.3 Konzepte zur Hypocalcämieprävention

Es gibt vielfältige Konzepte zur Verminderung des Auftretens von klinischer und subklinischer Hypocalcämie. Häufig ist das Ziel dieser Maßnahmen, die Regulationsmechanismen der Ca-Homöostase bereits vor der Geburt optimal auf den erhöhten Ca-Bedarf p.p. vorzubereiten, um die Ca-Konzentration im Blut um den Geburtszeitraum schnell zu erhöhen. Im Folgenden werden diese Strategien eingehender erläutert.

2.3.1 Calciumrestriktive Fütterung und Einsatz von Calciumbindern

Ein Ansatz zur Hypocalcämieprävention ist die Fütterung einer Ca-armen Ration (< 20 g Ca pro Tier und Tag; Wilkens et al. 2020) in den letzten drei bis vier Wochen vor der Kalbung (Khol et al. 2020). Eine trockenstehende Milchkuh benötigt in den letzten zwei Monaten der Trächtigkeit ca. 21 g Ca pro Tag (Martens und Deiner 2016). Die Ca-Menge vieler Trockensteherrationen übersteigt diesen täglichen Bedarf jedoch deutlich (Thilsing-Hansen et al. 2002b). In diesem Fall wird der Ca-Bedarf ausschließlich durch passive Aufnahme über den Gastrointestinaltrakt gedeckt, sodass die übrigen Mechanismen zur Steigerung des Ca-Gehalts im Blut nicht aktiviert sind (Ramberg et al. 1984, Horst et al. 1994). Im Gegensatz dazu wird durch das Ca-Defizit bei Ca-armer Fütterung die PTH-Sekretion stimuliert und so schon vor der Geburt die Freisetzung von Ca aus den Knochen aktiviert (Kichura et al. 1982). Durch PTH wird weiterhin frühzeitig die Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gefördert und damit auch die Ca-Absorption im Darm gesteigert. So kann durch die Verminderung des Ca in der Ration die Gegenregulation bereits Wochen bis Tage vor dem Einsetzen der Milchproduktion angeregt werden und so eine adäquate Adaptation an den erhöhten Bedarf nach der Kalbung erreicht werden (Thilsing-Hansen et al. 2002b, Khol et al. 2020). Allerdings findet dieses Konzept in der Praxis nur selten Anwendung, da bei einer Trockenmasseaufnahme von ca. 10 kg pro Tier und Tag nur maximal 3 g Ca pro kg Trockenmasse in der Trockensteherration enthalten sein darf, um die maximale Aufnahme von 30 g Ca pro Tier und Tag nicht zu überschreiten (Wenning und Grünberg 2015). Dies ist mit in der Praxis gängigen Futtermitteln meist nicht zu erreichen (Wilkens et al. 2020). Eine Ca-Aufnahmen über 30 g reicht nicht aus, um ein adäquates Ca-Defizit in der Kuh zu induzieren (Thilsing-Hansen et al. 2002b).

Um die Ca-Aufnahme v.a. in Rationen, die viel Ca-reiche Grassilage oder Luzerne enthalten, zu reduzieren, können Ca-Binder eingesetzt werden (Martín-Tereso und Martens 2014). Diese binden einen Teil des in der Ration vorhandenen Ca (Kerwin et al. 2019). Zeolith A, ein synthetisch hergestelltes Natriumaluminiumsilikat, führte in Studien zu signifikant höheren Ca-Werten im Blut einen Tag vor bis drei Tage nach der Kalbung und erhöhte den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel bereits eine Woche vor dem errechneten Kalbedatum (Thilsing-Hansen et al. 2002a, Kerwin et al. 2019). Nachteilig bei der Nutzung von Zeolith A zur Ca-Reduktion in der Ration war jedoch, dass aufgrund des bitteren Geschmacks die Akzeptanz des Futters sank und eine reduzierte Futteraufnahme und Wiederkauaktivität die Folge waren (Kerwin et al. 2019). Außerdem bindet es unspezifisch auch andere Mineralstoffe und Spurenelemente, die dann eventuell in der Ration wieder ergänzt werden müssen (Khol et al. 2020).

Neben Zeolith A kann auch Pansen-geschützte, phytatreiche Reiskleie in den letzten zwei bis drei Wochen vor der Geburt in die Ration gemischt werden, um die Ca-Verfügbarkeit zu vermindern. Pro kg Reiskleie werden dann bis zu 9 g Ca durch das enthaltene Phytat

gebunden (Wenning und Grünberg 2015). In der Studie von Martín-Tereso et al. (2014) erreichten Tiere, die mit einer Ration mit Reiskleie gefüttert wurden, nach der Geburt schneller wieder normocalcämische Ca-Konzentrationen im Blut und zeigten eine bessere Futteraufnahme als Tiere, deren Ration keine Reiskleie enthielt. So konnte durch den Einsatz von phytatreicher Reiskleie eine bessere Anpassungsfähigkeit an den gesteigerten Bedarf an Ca durch das Einsetzen der Milchproduktion erreicht werden.

2.3.2 Orale und parenterale Calciumgabe um die Kalbung

Für die orale Ca-Gabe um die Geburt gibt es ein vielfältiges Angebot an Boli, Gels und Lösungen auf dem Markt. Diese enthalten unterschiedliche Ca-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (Thilsing-Hansen et al. 2002b, Wenning und Grünberg 2015, Wilkens et al. 2020). Es wird empfohlen, 30 bis maximal 125 g Ca pro Anwendung zweimal im Abstand von 12 bis 24 Stunden kurz vor bis 48 Stunden nach der Geburt oral einzugeben (Goff 2008).

Ziel der oralen Ca-Supplementation im Kalbezeitraum ist es, die Ca-Verfügbarkeit im Darm deutlich zu steigern, um den passiven parazellulären Ca-Transport zu erhöhen (Thilsing-Hansen et al. 2002b, Goff 2008). Dieser ist v.a. vom Konzentrationsgefälle und dem elektrochemischen Gradienten zwischen Darmlumen und Blut abhängig und wird nicht durch die Regulation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ beeinflusst (Hoenderop et al. 2005). Daher kann er genutzt werden, um die Ca-Absorption im Darm zu steigern, auch wenn die Regulation durch PTH und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ noch nicht ausreichend aktiviert werden konnte. Um dieses Ziel zu erreichen, benötigt man gut lösliche Ca-Verbindungen, da nur ionisiertes Ca die Tight Junctions zwischen den Darmepithelzellen passieren kann (Hoenderop et al. 2005). Man kann zwischen gut löslichen Salzen - wie etwa Calciumchlorid (CaCl_2) - die schnell absorbiert werden können, und schlecht löslichen Salzen - wie z.B. Calciumsulfat (CaSO_4) oder Ca-Carbonat (CaCO_3) - unterscheiden (Wilkens et al. 2020). Die schnell absorbierbaren Ca-Salze erhöhen die Bioverfügbarkeit von Ca sofort und steigern die Blut-Ca-Konzentration innerhalb von 30 Minuten. Aufgrund der schlechten Löslichkeit steigert CaSO_4 die Blut-Ca-Konzentration erst zeitverzögert und CaCO_3 fast gar (Goff und Horst 1993). In vielen Präparaten werden schnell und langsam bioverfügbare Ca-Salze kombiniert, um einen länger anhaltenden stabilisierenden Effekt auf die Ca-Konzentration im Blut p.p. zu erzielen (Wilkens et al. 2020).

CaCl_2 hat zudem eine ansäuernde Wirkung auf den pH-Wert im Organismus (Goff 2008). Dies kann ein weiterer Vorteil bei der oralen Anwendung zur Hypocalcämieprophylaxe sein, da die leichte Ansäuerung des Extrazellularraums das Hypocalcämierisiko senkt (Wenning und Grünberg 2015, Wilkens et al. 2020). Gerade in kleineren Betrieben, für die das Konzept der Einmischung von anionischen Salzen in die Trockensteherration nicht praktikabel

ist, könnte dieser Effekt von Nutzen sein. Andererseits steigt in Betrieben, die anionische Salze zur Ansäuerung der Ration nutzen und gleichzeitig den Tieren auch CaCl_2 oral verabreichen, das Risiko einer klinisch relevanten metabolischen Azidose, wenn die orale Behandlung mit CaCl_2 in zu kurzen Intervallen über einen längeren Zeitraum durchgeführt wird (Wenning und Grünberg 2015). Weiterhin reizt CaCl_2 die Schleimhaut im Gastrointestinaltrakt, weshalb in aktuellen Präparaten das CaCl_2 durch Fett oder Zellulose ummantelt wird (Thilsing-Hansen et al. 2002b, Wilkens et al. 2020). Bei oraler Verabreichung besteht außerdem immer die Gefahr des Fehlschluckens mit einer Verlegung der oberen Atemwege oder anschließender Aspirationspneumonie (Khol et al. 2020). Es konnte dennoch nachgewiesen werden, dass durch orale Weiterbehandlung von wieder stehfähigen Tieren, die zuvor eine Ca-Infusion erhalten hatten, mit Ca-Salzen das Rezidivrisiko gesenkt wurde (Thilsing-Hansen et al. 2002b). Domino et al. (2017) verglichen die Auswirkungen von oraler und subkutaner Ca-Gabe nach der Geburt auf die Ca-Konzentration im Blut und die Häufigkeit des Auftretens anderer Erkrankungen im peripartalen Zeitraum. Tiere, die einen Ca-Bolus mit 43 g Ca oral erhielten, hatten im Vergleich zur nicht behandelten Kontrollgruppe über 24 Stunden erhöhte Ca-Werte im Blut. Auch andere Studien konnten einen positiven Effekt auf die Ca-Konzentration über unterschiedliche Zeiträume hinweg nach der Abkalbung nachweisen (Blanc et al. 2014, Martinez et al. 2016a). Bei Untersuchungen zu Effekten einer oralen Ca-Gabe auf das Risiko anderer Erkrankungen oder Milchleistung konnten keine einheitlichen Ergebnisse festgestellt werden. Dennoch liefern diese Studien deutliche Hinweise darauf, dass es v.a. bei hochleistenden und älteren Milchkühen positive Effekte auf die Produktionsleistung gab, während die Applikation bei Erstkalbinnen eher negative Auswirkungen hatte (Oetzel und Miller 2012, Blanc et al. 2014, Martinez et al. 2016a, Martinez et al. 2016b, Domino et al. 2017). Daraus lässt sich ableiten, dass eine orale Ca-Gabe nach der Geburt nicht flächendeckend bei allen Tieren, sondern gezielt bei Risikotieren in höheren Laktationen und als Begleittherapie nach intravenöser Ca-Infusion eingesetzt werden sollte.

Wie oben bereits ausgeführt, ist eine prophylaktische Behandlung von hypocalcämischen Tieren, die keine klinischen Symptome zeigen, mit einer intravenösen Ca-Infusion nicht zielführend. Durch den kurzzeitigen, starken Anstieg der Ca-Konzentration im Blut wird die Ausschüttung von PTH vermindert, bis die Ca-Konzentration wieder unter die physiologische Konzentration im Serum fällt (Braun et al. 2009). In der Folge wird die Aktivierung der Ca-Resorption aus den Knochen durch PTH und die Steigerung der intestinalen Absorption von Ca, die durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vermittelt wird, gehemmt. Blanc et al. (2014) stellten in ihrer Studie fest, dass Tiere, die prophylaktisch, also ohne, dass sie Anzeichen von klinischer Hypocalcämie zeigten, mit einer intravenösen Ca-Infusion behandelt

wurden, 36 und 48 Stunden nach der Behandlung signifikant niedrigere Ca-Werte im Blut hatten als unbehandelte Kontrolltiere.

Die subkutane Gabe von Ca-Lösungen ist eine weit verbreitete Prophylaxemaßnahme (Wenning und Grünberg 2015, Wilkens et al. 2020). Sie ist durch eine langsamere Absorption und eine niedrigere maximale Ca-Konzentration im Blut im Vergleich zur intravenösen Gabe gekennzeichnet und stellt eine einfache und sichere Möglichkeit der Ca-Supplementation dar (Wenning und Grünberg 2015). Weiterhin steigert sie die Ca-Konzentration im Blut über maximal 12 Stunden hinweg und senkt so das Hypocalcämierisiko in den ersten 48 Stunden nach der Abkalbung (Amanlou et al. 2016, Domino et al. 2017, Wilms et al. 2019). Dennoch konnten in diesen Studien kaum Einflüsse auf das Risiko nachfolgender Erkrankungen, die Milchleistung oder Reproduktionsergebnisse beobachtet werden (Miltenburg et al. 2016). Ein Grund dafür könnte sein, dass einige Autoren die gerade beschriebenen negativen Auswirkungen auf die Regulation des Ca-Haushalts durch eine prophylaktische, intravenöse Ca-Infusion in abgeschwächter Form auch für die subkutane Gabe von Ca-Lösungen erwarten (Wenning und Grünberg 2015, Wilkens et al. 2020). In einer Studie von Frost et al. (2023) führte eine subkutane Ca-Infusion direkt nach der Abkalbung zu einer geringeren Serum-Ca-Konzentration 32 bis 64 Stunden p.p. im Vergleich mit der Kontrollgruppe sowie mit Kühen, die direkt oder 48 Stunden nach der Kalbung einen oralen Ca-Bolus erhielten.

2.3.3 Einsatz anionischer Salze in der Vorbereiterfütterung

Ein weiterer Ansatz zur Vermeidung von Hypocalcämie bei peripartalen Milchkühen ist der Zusatz anionischer (saurer) Salze - wie etwa Cl⁻ oder SO₄²⁻-Salzen - zu der Ration während der Vorbereitungsphase (ca. zwei bis drei Wochen vor der Abkalbung). Durch den Zusatz dieser Salze enthält die Ration einen Überschuss an starken Anionen (Block 1984, Lean et al. 2019, Santos et al. 2019). Diese induzieren durch ihre ansäuernde Wirkung im Organismus eine kompensierte metabolische Azidose (Santos et al. 2019, Zimpel et al. 2021).

Die Wirkung einer Ration auf den pH-Wert des Blutes wird durch die „dietary cation-anion balance“ (DCAB) oder „dietary cation-anion difference“ (DCAD) beschrieben. Diese setzt sich aus der Differenz der Futtermittelkonzentrationen (in mEq/kg TS) der starken Kationen Natrium (Na⁺) und Kalium (K⁺) und der starken Anionen Chlorid (Cl⁻) und Sulfat (SO₄²⁻) zusammen:

$$\text{DCAB (mEq/kg TS)} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{SO}_4^{2-}])$$

Diese Salze haben einen starken Einfluss auf den Säuren-Basen-Haushalt und den pH-Wert des Blutes. Eine kalium- also kationenreiche Fütterung führt zu einer metabolischen

Alkalose, während der Zusatz von Cl^- oder SO_4^{2-} in der Ration eine metabolische Azidose zur Folge hat (Constable 2014, Santos et al. 2019).

Bereits in den 1960er Jahren konnte gezeigt werden, dass ein hoher Anionen-Gehalt in der Ration peripartal das Hypocalcämierisiko senkt, während ein hoher Gehalt an Kationen zu klinischer Hypocalcämie prädisponiert (Block 1984). Für diese Effekte findet man verschiedene Erklärungsansätze in der Literatur. Die Funktion des PTH-Rezeptors ist abhängig von der Stoffwechsellage und der Anwesenheit von Mg^{2+} (Goff 2008). Fehlt Mg^{2+} in ausreichender Menge kann PTH an den PTH-Rezeptor binden, eine Signaltransduktion mit Bildung von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) in der Zelle findet jedoch nicht statt. In alkalischem Milieu ändert der PTH-Rezeptor seine Konformation, sodass PTH nicht mehr binden kann (Goff 2008). Bei leicht azidotischem Milieu und ausreichend vorhandenem Mg^{2+} ist die Funktion des PTH- Rezeptors verbessert und die damit verbundene Ansprechbarkeit der Gewebe (Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Niere, Freisetzung von Ca aus dem Knochengewebe) für PTH erhöht (Wilkens et al. 2020, Venjakob und Borchardt 2022). Weiterhin steigt durch eine Absenkung des pH-Werts in der Niere die renale Ca-Exkretion, sodass der Ca-Fluss ins Blut angeregt wird und der Anteil des ionisierten Ca im Blut steigt (Grünberg et al. 2011, Herm et al. 2015). Dieser Mechanismus spielt bei Wiederkäuern nur eine untergeordnete Rolle (Herm et al. 2015).

Zu einem direkten Einfluss der Stoffwechsellage auf die gastrointestinale Ca-Absorption bzw. die Ca-Resorption aus den Kochen finden sich widersprüchliche Ergebnisse in der Literatur (Wilkens et al. 2020). Die Autoren von Wilkens et al. (2020) führen hier die Studienergebnisse von Abu Damir et al. (1994), Schonewille et al. (1994) und Roche et al. (2007) an, die bei einer azidotischen Stoffwechsellage eine erhöhte Ca-Verdaulichkeit nachweisen konnten. Weiterhin gäbe es jedoch auch Studien bei denen keine Effekte oder sogar negative Auswirkungen auf die Ca-Verdaulichkeit festgestellt werden konnten (Leclerc und Block 1989, Oehlschlaeger et al. 2014). Ähnlich uneinheitliche Ergebnisse gäbe es für den Einfluss eines azidotischen Körpermilieus auf die Knochenresorption. In der Studie von Liesegang (2008) konnte bei Fütterung einer negativen DCAB (-164 mEq/kg TS) bei Ziegen nach der Geburt ein Anstieg von Knochenresorptionsmarkern im Blut, die auf eine gesteigerte Knochenresorption hinweisen, nachgewiesen werden. Andere Studien konnten hingegen keine Effekte zeigen (Schonewille et al. 1994, Liesegang et al. 2007, Roche et al. 2007, Oehlschlaeger et al. 2014).

Bei der Umsetzung des DCAB-Konzeptes in der Trockensteherfütterung sollten einige Grundsätze beachtet werden.

Eine Metaanalyse von Santos et al. (2019) zeigte, dass eine Absenkung der DCAB unter einen Wert von -150 mEq/kg keine Verbesserung des Hypocalcämierisikos und der Tiergesundheit bedingt. Eine andere Metaanalyse von Lean et al. (2019) kam zu dem Ergebnis, dass eine Reduktion der DCAB der Trockensteherration um 200 mEq/kg TS im Vergleich zu der Laktierendenration eine verbesserte Milchleistung zur Folge hat, unabhängig davon, ob die Trockensteher-DCAB nach der Absenkung im negativen Bereich liegt.

Für eine effektive Ansäuerung der Ration sind v.a. die Gehalte von K^+ und Cl^- entscheidend (Goff 2008). Der K^+ -Gehalt sollte möglichst niedrig (< 10 g/kg TS) gehalten werden, sodass eine Fütterung von 5 g/kg TS Cl^- ausreicht, um die DCAB der Ration effektiv abzusenkten (Goff 2014). Bei höheren K^+ -Werten muss der Cl^- -Gehalt entsprechend gesteigert werden, um den alkalisierenden Effekt des K^+ auszugleichen (Goff 2014). Ab einem K^+ -Gehalt von > 14 g/kg TS ist es laut Goff (2014) schwierig, den Cl^- -Gehalt adäquat an den K^+ -Gehalt anzupassen, um eine ausreichende Ansäuerung zu bewirken. Goff und Horst (1997) empfehlen einen Ca-Gehalt von 8,5 - 10,0 g/kg TS. Viele Autoren raten bei Rationen mit einer niedrigen DCAB (< 0 mEq/kg TS) zu höheren Ca-Gehalten in der Ration (Ender et al. 1971, Lomba et al. 1978, Block 1984). Gelfert und Staufenbiel (2008) empfehlen in ihrer Übersichtsarbeit für durch anionische Salze angesäuerte Trockensteher- bzw. Vorbereiterrationen einen Ca-Gehalt von 9,0 - 12 g/kg TS. Eine Steigerung des Ca-Gehalts > 12 g/kg TS sei jedoch nicht nötig (Gelfert und Staufenbiel 2008). Der P_i -Gehalt sollte laut NRC (2021) bei 2,1 g/kg TS liegen. Wächter et al. (2022) konnten zeigen, dass ein geringerer P_i -Gehalt von 1,6 g/kg TS positive Effekte auf die Ca-Homöostase hat. Die Empfehlung für den Na^+ -Gehalt liegt bei 1,7 g/kg TS (NRC 2021). Der Mg^{2+} -Gehalt in der Ration sollte 4,0 g/kg TS nicht unterschreiten (Martín-Tereso und Martens 2014) und der Schwefel-Gehalt zwischen 2,2 und 4,0 g/kg TS liegen, um die Synthese von Aminosäuren im Pansen zu ermöglichen ohne dabei toxische Effekte hervorzurufen (Gould et al. 1991, Goff 2014).

Weiterhin ist die Dauer der Fütterung der DCAB-Ration entscheidend. Diese sollte zwischen 10 und 28 Tagen liegen, da es einen Zusammenhang zwischen der Verweildauer in der Vorbereitergruppe und der Milchleistung sowie der Tiergesundheit in der Folgelaktation gibt (Chebel 2021, Vieira-Neto et al. 2021, Venjakob et al., 2022). Lopera et al. (2018) konnten bereits bei einer Verweildauer von mehr als 21 Tagen eine abnehmende Trockenmasseaufnahme beobachten. Unter Beachtung der Variation der Trächtigkeitsdauer sollten Früh trockensteher an Tag 254 der Trächtigkeit in die Vorbereitergruppe umgestellt werden, um eine entsprechende Vorbereitungsdauer zu erreichen (Venjakob und Borchardt 2022). Um einer nicht-kompensierten metabolischen Azidose vorzubeugen und den Erfolg der Fütterung zu überprüfen, sollte v.a. bei einer DCAB < -100 mEq/kg TS wöchentlich bei einer Stichprobe der Tiere der Harn-pH-Wert kontrolliert werden (Wenning und Grünberg 2015,

Venjakob und Borchardt 2022). Nach Horst et al. (1997) ist ein Harn-pH-Wert zwischen 5,5 und 6,2 ein Indikator für eine ausreichende Ansäuerung der Ration.

Bei einer erfolgreichen Umsetzung des DCAB-Konzeptes in der Vorbereiterfütterung sind deutliche positive Auswirkungen auf die Folgelaktation zu erwarten. Die Metaanalysen von Lean et al. (2019) und Santos et al. (2019) zeigen, dass das Risiko für klinische Hypocalcämie um 40%, das Risiko für Retentio secundinarum um 41% und das Metritisrisiko um 56% sinken, wenn eine negative DCAB (- 51 mEq/kg TS vs. + 212 mEq/kg TS) gefüttert wird. Außerdem hatten pluripare Kühe in der anschließenden Laktation im Durchschnitt 1,1 kg/ Tag mehr Milch als die Kontrollgruppe (Lean et al. 2019). Im Vergleich zu Jungkühen, die präpartal eine positive DCAB gefüttert bekamen, gaben Jungkühe tendenziell weniger Milch, wenn sie präpartum die Ration mit negativer DCAB erhielten. In einer Studie von Zimpel et al. (2021) in der die Auswirkungen der Fütterung einer DCAB von 200 mEq/kg TS, - 50 mEq/kg TS und -150 mEq/kg TS auf Erstkalbinnen untersucht wurde, hatte die Fütterung einer DCAB von - 50 mEq/kg TS positive Effekte auf das Merzungsrisiko, das Auftreten von Fieber p.p. sowie das Risiko uteriner Erkrankungen. Bei der Fütterung einer DCAB von - 150 mEq/kg TS wurden hingegen negative Effekte auf diese Parameter beobachtet. Die Fütterung einer Ration mit einer deutlich negativen DCAB an hochtragende Erstkalbinnen sollte daher eher kritisch betrachtet werden, da das Kosten-Nutzen-Risiko aufgrund des geringen Risikos klinischer Hypocalcämie bei Erstkalbinnen eher ungünstig ausfällt.

2.3.4 Applikation von Cholecalciferol und seinen Metaboliten ante partum

Ziel der Supplementierung von Cholecalciferol a.p. ist die Aktivierung des Ca-Stoffwechsels bereits vor der Kalbung. Wie bereits unter Punkt 1.1.2 beschrieben, steigert Cholecalciferol nach zweifacher Hydroxylierung zum biologisch aktiven $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die aktive Ca-Aufnahme aus dem Darm. Die Injektion hoher Dosen Cholecalciferol fünf bis sieben Tage vor der Kalbung wird seit den 1970er-Jahren in Deutschland zur Hypocalcämieprophylaxe eingesetzt (Gürtler et al. 1977).

In einer Arbeit aus den 1970er-Jahren sank die Inzidenz klinischer Hypocalcämie bei Tieren, die in vorherigen Laktationen bereits eine klinische Hypocalcämie entwickelt hatten, durch Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol sieben Tage vor der errechneten Kalbung und Nachdosierung mit der gleichen Menge Cholecalciferol, wenn die Tiere nicht innerhalb einer Woche gekalbt hatten (Julien et al. 1977). In den Herstellerangaben eines auf dem deutschen Markt verfügbaren Cholecalciferolproduktes (Ursovit D₃, Serumwerk Bernburg) wird eine ähnliche Dosierung von 1 Mio. I.E. je 50 kg Körpergewicht empfohlen. Darüber hinaus wird auch hier eine erneute Injektion mit derselben Dosis empfohlen, sofern die Kuh nicht innerhalb von sechs Tagen nach Erstbehandlung abkalbt, um potentiellen negativen Effekten auf die

Ca-Homöostase nach Abklingen der Wirkung der Injektion vorzubeugen (Littledike und Goff 1980). Es ist jedoch möglich, dass die erneute Injektion mit der gleichen Dosierung sehr nah an der toxischen Dosis liegt (Littledike und Horst 1982). Da in einer Studie von Venjakob et al. (2022) eine einmalige Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol fünf Tage a.p. über mindestens 10 Tage p.p. erhöhte 25OHD₃- und Ca-Werte im Serum zur Folge hatte, sollte gegebenenfalls von einer Nachdosierung abgesehen werden (Venjakob et al. 2022, Venjakob und Borchardt 2022).

In einer Studie von Littledike und Horst (1982) erhielten tragende, nicht-laktierende Jersey-Kühe 32 Tage vor der erwarteten Kalbung eine Injektion mit 15 Mio. I.E. und sieben Tage später eine weitere mit 2,5 Mio. I.E. Cholecalciferol. Ab zwei Wochen nach der ersten Cholecalciferol-Injektion zeigten die Tiere klinische Anzeichen einer Cholecalciferolintoxikation wie Anorexie sowie Dyspnoe und Polyпноe. Zehn der 17 behandelten Kühe verstarben nach mehreren Wochen mit klinischen Symptomen einer Cholecalciferolüberdosierung. Auch in vielen weiteren Studien zeigten die behandelten Tiere sowohl bei übermäßiger oraler Supplementierung von Cholecalciferol und Ergocalciferol als auch bei parenteraler Gabe von mindestens 10 Mio I.E. Cholecalciferol klinische Symptome einer Hypervitaminose D. Dazu zählen eine ruminale Stase, starke Diurese, Anorexie mit nachfolgendem Gewichtsverlust, kalzifizierte Läsionen im Endothel von Herz, Aorta und Lungenarterien sowie Ca-Einlagerungen in Lunge und Niere und eine generelle, übermäßige Mineralisierung des kardiovaskulären Systems (Manston und Payne 1964, Capen et al. 1966, Petrie und Breeze 1977). Alle diese Symptome beruhen auf der durch Cholecalciferol bzw. dessen Metaboliten ausgelösten Hypercalcämie (Döcke 1994). Durch Injektion hoher Dosen Cholecalciferol steigt v.a. der 25OHD₃-Spiegel im Blut stark (von 30-50 ng/ml auf 200-400 ng/ml) an (Littledike und Horst 1982). In diesen hohen Konzentrationen kann 25OHD₃ an den VDR binden und bedingt möglicherweise durch die starke Steigerung der Ca-Konzentration die oben genannten Symptome der Cholecalciferol-Intoxikation (Brumbaugh und Hausler 1973, Döcke 1994, Jones 2008).

Wichtig für die Wirksamkeit dieser Interventionsmaßnahme ist eine Injektion innerhalb eines bestimmten Zeitfensters von ca. 8 bis 4 Tagen vor der Geburt (Wenning und Grünberg 2015, Khol et al. 2020). Dies ist aufgrund der Variation des tatsächlichen Kalbetermins nicht immer möglich. Die intramuskuläre Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol fünf Tage vor der errechneten Kalbung in Kombination mit einer Fütterung von anionischen Salzen hatte in der Studie von Venjakob et al. (2022) positive Auswirkungen auf die Ca-Dynamik p.p. im Serum der behandelten Tiere. Bei Auswertung der Effekte der Injektion auf die Gesundheit und Milchleistung der Tiere konnte jedoch ein höheres Risiko für Retentio secundinarum und Metritis sowie eine geringere Milchmenge in der ersten und zweiten Milchleistungsprüfung in

der Behandlungsgruppe nachgewiesen werden (Venjakob et al. 2022). Einige Autoren warnen außerdem vor mittelfristig auftretenden negativen Effekten auf die Serum-Ca-Konzentration durch die starke Beeinflussung der Anpassungsmechanismen der Ca-Homöostase bereits vor der Kalbung (Wenning und Grünberg 2015, Khol et al. 2020, Wilkens et al. 2020).

In Vorbereitungen wird meist ein erhöhter Gehalt an Cholecalciferol gefüttert. Die Gesellschaft für Ernährungsphysiologie empfiehlt ca. 20.000 I.E. pro Tier und Tag in einer Ration für Trockensteher (GfE 2001). In der Praxis scheinen jedoch auch höhere Cholecalciferolmengen in der Fütterung eine Rolle zu spielen. In einer Metaanalyse von Santos et al. (2019), bei der der Einfluss der DCAB auf die Ca-Dynamik um die Kalbung untersucht wurde, lag die Cholecalciferolmenge in der Trockensteherration zwischen 25.000 und 50.000 I.E./Tag. Poindexter et al. (2020) konnten zeigen, dass eine weitere Steigerung der Cholecalciferolmenge in der Ration auf > 60.000 I.E./Tag keine positiven Effekte auf die Ca-Versorgung der Tiere hatte. In dieser Studie hatten Milchkühe, die über 28 Tage hinweg mit 140.000 I.E. Cholecalciferol pro Tag gefüttert wurden, den gleichen 25OHD₃- Wert im Plasma wie Milchkühe, die über 28 Tage ein Supplement mit 60.000 I.E./Tag bekamen. Weiterhin konnten in einer Studie, in der tragende Milchkühe ab dem 255. Tag der Trächtigkeit mit einer Ration mit negativer (-130 mEq/kg TS) oder positiver (130 mEq/kg TS) DCAB gefüttert wurden, in der zudem 120.000 I.E./Tag (3 mg) Cholecalciferol oder 25OHD₃ supplementiert wurden, unabhängig von der DCAB keine Effekte auf die Konzentrationen von Cholecalciferolmetaboliten und den Ca-Abfall um die Geburt nachgewiesen werden (Rodney et al. 2018). Die orale Supplementierung von Cholecalciferol scheint bei der Entstehung und Prophylaxe von Hypocalcämie bei Milchkühen eher eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Neben Cholecalciferol wurden auch dessen Metaboliten 25OHD₃ und 1,25(OH)₂D₃ auf ihre Eignung für die Prophylaxe der peripartalen Hypocalcämie untersucht. In einer Untersuchung von Olson et al. (1973) sank durch eine intramuskuläre Injektion von 4 mg 25OHD₃ 48 Stunden vor der erwarteten Kalbung die Häufigkeit des Auftretens von klinischer Hypocalcämie von 29 % bei den Kontrolltieren auf 16 % in der Behandlungsgruppe. Bei einer Dosis von 8 mg 25OHD₃ betrug die Inzidenz klinischer Hypocalcämie in der Behandlungsgruppe nur 19 %, während in der Kontrollgruppe 52 % der Tiere klinische Symptome einer Hypocalcämie zeigten (Olson et al. 1973). Ein Vorteil des Einsatzes der Metaboliten gegenüber dem Einsatz von Cholecalciferol ist die geringere Halbwertszeit der Verbindungen im Körper. Nach Jones (2008) beträgt die Halbwertszeit von 25OHD₃ im Körper nur 15 Tage, die von 1,25(OH)₂D₃ lediglich 15 Stunden, während Cholecalciferol erst nach zwei Monaten zur Hälfte vom Organismus verstoffwechselt wurde. Das Risiko einer Überdosierung mit Symptomen einer Cholecalciferolintoxikation bei Nachdosierung ist daher niedriger. Gleichzeitig engt die damit verbundene kürzere Wirksamkeitsdauer das kritische

Zeitfenster der Injektion vor der Kalbung weiter ein. Aktuell gibt es auf dem Markt keine zugelassenen Injektionspräparate zur Hypocalcämieprophylaxe beim Wiederkäuer, die 25OHD_3 oder $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ enthalten.

Es wurden weiterhin auch Untersuchungen zur oralen Gabe von 25OHD_3 in Kombination mit der DCAB der Futterration durchgeführt. In den Studien, bei denen eine orale Applikation von 25OHD_3 bei positiver DCAB in der Ration getestet wurde, konnte (im Gegensatz zur oralen Gabe von Cholecalciferol) meist ein deutlicher Anstieg der 25OHD_3 -Konzentration im Blut beobachtet werden (Taylor et al. 2008, Rodney et al. 2018). Dennoch konnten in diesen Studien keine signifikanten Effekte auf die Ca-Dynamik um die Kalbung festgestellt werden. Wilkens et al. (2012) beobachteten bei oraler Supplementierung von 20.000 I.E. 25OHD_3 pro Tag über 10 Tage vor dem errechneten Kalbetermin und positiver DCAB in der Ration eine Verzögerung der endogenen Adaption an den Ca-Abfall p.p. um ca. 12 Stunden. Auch in dieser Studie zeigten sich deutlich höhere 25OHD_3 -Werte bei Tieren, die 25OHD_3 zugefüttert bekamen. Allerdings waren die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte bei den Behandlungstieren nur zu den Zeitpunkten 12 Stunden bzw. 4 Tage nach der Kalbung signifikant höher als bei den Kontrolltieren. Auch 25OHD_3 kann in hohen Dosen wie die biologisch aktivere Form $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR binden (Tanaka und Deluca 1971). Für eine vergleichbare Wirkung zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist jedoch die 150-fache Menge nötig (Brumbaugh und Hausler 1973).

Wilkens et al. (2012) fanden außerdem heraus, dass die Kombination der Fütterung von 25OHD_3 mit einer negativen DCAB (-160 mEq/kg TS) peripartal zu signifikant höheren Ca-Werten führte als eine alleinige Fütterung einer negativen DCAB. Wie oben beschrieben, kann 25OHD_3 in hohen Dosen an den VDR binden (Brumbaugh und Hausler 1973). Bei Supplementierung a.p. könnte es so die intestinale Ca-Aufnahme verbessern, sodass der Blut-Ca-Spiegel steigt. In der Gruppe der mit 25OHD_3 und negativer DCAB gefütterten Kühe waren die Werte von CrossLaps - einem Marker für die Knochenresorption - und PTH im Blut zwei Tage vor der Kalbung geringer als bei den Tieren der übrigen Gruppen. Osteocalcin, ein Marker für den Knochenaufbau, wurde durch die Kombinationsfütterung von 25OHD_3 und einer negativen DCAB nicht beeinflusst. Die Autoren schlussfolgern, dass durch den höheren Blut-Ca-Spiegel die PTH-Aktivierung und Knochenresorption vor der Abkalbung vermindert sind und so das Ca-Reservoir im Knochen vergrößert wird. Gleichzeitig ist die PTH-Sensitivität der Zielgewebe (z.B. Knochengewebe) aufgrund der durch die anionenreiche Ration induzierten Azidose erhöht, sodass in der Ca-Mangelsituation nach der Kalbung bereits geringere Konzentrationen von PTH ausreichen, um eine starke Ca-Mobilisation aus den Knochen zu vermitteln (Wilkens et al. 2012).

In der Vergangenheit wurde auch die parenterale Gabe der biologisch aktivsten Form des Cholecalciferols, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, auf ihre Eignung zur Hypocalcämieprophylaxe untersucht. Gast et al. (1979) konnten schon in den 1970er-Jahren zeigen, dass eine intramuskuläre Injektion von 4 mg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ fünf Tage vor der errechneten Kalbung (Wiederholung alle fünf Tage bis zur tatsächlichen Abkalbung) bei einer Ca- und silagereichen Ration zu einer deutlichen Reduktion der Inzidenz klinischer Hypocalcämie führt. Die Behandlung steigerte den Ca-Gehalt im Blut innerhalb von 24 Stunden und stabilisierte den Serum-Ca-Spiegel bis 72 Stunden nach der Kalbung. Der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Wert im Blut stieg innerhalb von 12 Stunden schnell an und erreichte nach 120 Stunden wieder annähernd den Basalwert (Gast et al. 1979). Bei täglicher oraler Verabreichung von 100 bzw. 200 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pro Tag ab fünf Tage vor dem errechneten Abkalbetermin bis zur tatsächlichen Kalbung und Fütterung einer Grassilage-reichen Ration fanden die Autoren in der Behandlungsgruppe vom Beginn der Fütterung bis fünf Tage p.p. höhere Ca-Werte im Blut (Hove und Kristiansen 1984). Zwischen Tag 8 und 11 nach der Kalbung entwickelten diese Tiere jedoch eine hypocalcämische Ca-Konzentration im Serum und über ein Drittel der Tiere zeigte klinische Symptome einer Hypocalcämie. Die Autoren vermuten, dass durch die exogene Zufuhr von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Expression der 1α -Hydroxylase vermindert ist und so endogen nicht genügend $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet werden kann, um nach Abbau des exogenen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Ca-Homöostase aufrecht zu erhalten (Hove und Kristiansen 1984). Zudem wird durch hohe $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentrationen die 24-Hydroxylase (CYP24A1) aktiviert und in der Folge das exogene $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ schnell metabolisiert (Kutuzova und DeLuca 2004). In einer aktuelleren Studie, in der die Behandlungsgruppe eine subkutane Injektion von 300 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ innerhalb der ersten sechs Stunden nach der Kalbung erhielt und in der Vorbereitungsphase mit einer negativen DCAB (-123 mEq/kg TS) gefüttert wurde, konnte ein ähnlicher Effekt in deutlich abgeschwächter Form beobachtet werden (Vieira-Neto et al. 2017). Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Injektion führte innerhalb von 24 Stunden zu einem Anstieg der Serum-Ca-Konzentration, der den Ca-Spiegel bis Tag drei p.p. stabilisierte. Allerdings beobachteten auch Vieira-Neto et al. (2017) an Tag 9 und 12 p.p. signifikant mehr Tiere mit subklinischer Hypocalcämie in der Behandlungsgruppe. Auch in dieser Studie stieg die Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ innerhalb von 12 Stunden auf den Höchstwert und sank dann innerhalb von fünf Tagen wieder auf den Basalwert. Eine Gabe von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ um die Kalbung scheint also zu einem schnellen, über die für den Ca-Spiegel kritische Zeitperiode um die Kalbung andauernden Serum-Ca-Anstieg zu führen. Dennoch sind der passende Zeitpunkt der Applikation sowie der in einigen Studien beobachtete „Rebound-Effekt“ der Ca-Konzentration mit Hypocalcämie 8 bis 12 Tage p.p. kritische Faktoren bei der Eignung dieser Behandlung zur Hypocalcämieprophylaxe.

2.4 Zielsetzung der Arbeit

Cholecalciferol ist bereits seit den 1970er Jahren als Injektionspräparat für Rinder auf dem deutschen Markt verfügbar und wird von vielen Betrieben regelmäßig zur Hypocalcämieprophylaxe eingesetzt. In der von Venjakob et al. (2022) durchgeführten Studie wurde die Injektion von Cholecalciferol am 275. Tag der Gravidität mit der Fütterung anionischer Salze kombiniert. In dieser Studie konnten vielversprechende Effekte auf die Ca-Dynamik nach der Kalbung aber auch eine geringere Milchleistung und ein höheres Risiko für Retentio secundinarum und Metritis bei den behandelten Tieren nachgewiesen werden. Durch die vorliegende Studie sollte überprüft werden, ob der positive Effekt auf die Ca-Dynamik und der negative Effekt auf die Milchleistung und den Reproduktionstrakt in einer multizentrischen Studie reproduziert werden kann. Basierend auf den Ergebnissen von Venjakob et al. (2022) wurde eine niedrigere Dosis (10 Mio. IE Cholecalciferol je Tier) eingesetzt und die Tiere wurden nicht nachdosiert. Des Weiteren wurde die Studie auf Betrieben mit positiver DCAB in der Trockensteherration durchgeführt. Außerdem erhielten die Tiere der Kontrollgruppe darüber hinaus ein Placebo, um ausschließen zu können, dass die zuvor beobachteten negativen Effekte nicht mit der Injektion selbst und dem damit verbundenen Stress kurz vor der Kalbung zusammenhängen.

Zu diesem Zweck wurden auf elf konventionellen Milchviehbetrieben 446 trockenstehenden Milchkühen ca. sieben Tage vor dem errechneten Kalbetermin 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (10 ml, Ursovit D₃, Serumwerk Bernburg) oder ein Placebo (10 ml Natriumchlorid 0,9%, B.Braun Melsungen AG) injiziert. Um die Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die peripartale Serum-Ca-Konzentration zu untersuchen, wurden bei einer Stichprobe von 95 Tieren jeweils Blutproben an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung genommen. Bei 38 Tieren wurde, sofern die Tiere noch nicht gekalbt hatten, zusätzlich zwei Tage nach der Cholecalciferol-Injektion eine weitere Blutprobe entnommen, um den Effekt der Behandlung auf Progesteron, Östradiol und die Cholecalciferol-Metaboliten zu untersuchen. Der Geburtsverlauf, das Auftreten von Zwillingen, Totgeburten, Retentio secundinarum und klinischer Hypocalcämie (Festliegen) wurde dokumentiert. Bei allen Tieren wurde fünf bis zehn Tage p.p. Vaginalsekret gewonnen, um das Auftreten von Metritiden zu untersuchen. Auch die Milchleistung, Fruchtbarkeitsparameter und Merzungen wurden erfasst, um den Einfluss der Behandlung auf diese Parameter zu analysieren.

3 Versuchstiere, Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und Betriebe

Der praktische Teil dieser Arbeit wurde von April bis Oktober 2022 im Rahmen eines genehmigten Tierversuchs (Aktenzeichen: 33.19-42502-04-21/3828) auf elf Milchvieh der Rasse Holstein Friesian haltenden Betrieben in Ostfriesland und Cloppenburg durchgeführt. Diese Betriebe lagen alle im Praxisgebiet der Tierärztlichen Gemeinschaftspraxis Detern-Velde und werden tiermedizinisch durch diese betreut. Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren die Teilnahme an der Milchleistungsprüfung und die Fütterung einer positiven DCAB in der Trockensteherfütterung. Der Beobachtungszeitraum, in dem die Daten der Milchleistungsprüfungen gesammelt wurden, erstreckte sich von Mai 2022 bis September 2023.

3.1.1 Allgemeine Betriebsdaten

Die Tabelle 2 zeigt eine Übersicht über die elf teilnehmenden Betriebe. Es ist die Anzahl der Kalbungen, die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer, die 305-Tage-Milchleistung sowie die Haltung und Fütterung während des Untersuchungszeitraumes dargestellt.

Tabelle 1. Übersicht über die allgemeinen Betriebsdaten

Betrieb	Kühe, n	Haltung	Fütterung	Melkung	Weidegang	Ø-305d-ML, kg¹
1	60	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Gras/Mais-silage, Kraftfutter-automat	Melkroboter	in den Sommermonaten	10.629
2	160	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR ²	Melkroboter	Nein	10.278
3	200	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand	Nein	10.310
4	200	Planbefestigter Offenstall mit überdachten Liegeboxen	Teil-TMR	Melkstand	Nein	9.278
5	170	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand, seit 12/2022 Melkroboter	in den Sommermonaten	9.544
6	260	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkkarussell	Nein	11.700
7	250	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand	Nein	10.441
8	100	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Gras/Mais-silage, Kraftfutter-automat	Melkstand	in den Sommermonaten	11.058
9	180	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand	in den Sommermonaten	11.388
10	280	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand	Nein	10.165
11	250	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Teil-TMR	Melkstand	Nein	10.867

¹ Ø-305-Tage-Milchleistung im Durchführungszeitraum in kg

² bei der Teil- Totalen Mischration (Teil-TMR) erfolgte eine Kraftfutterzuteilung nach Milchleistung im Melkstand/ Melkroboter/ Melkkarussell

3.1.2 Transitkuhmanagement

In Tabelle 2 ist ein Überblick über das Transitkuhmanagement der einzelnen Betriebe dargestellt. Die trockenstehenden Kühe waren in Liegeboxenlaufställen oder Tiefstreuställen aufgestellt. Auf den meisten Betrieben wurde einphasig eine Teil-Totale Mischration (Teil-TMR) mit Kraftfutterzuteilung nach Milchleistung während des Melkvorgangs gefüttert. Lediglich auf drei Betrieben wurde eine zweiphasige Trockensteher-Fütterung, bei der die Tiere drei Wochen vor der Abkalbung von der Frühtrockensteher- in die Vorbereitergruppe umgestellt wurden, durchgeführt. Ein weiterer Betrieb stellte zu Beginn des Versuchszeitraums auf eine durch anionische Salze angesäuerte Vorbereitration um und wurde daraufhin von der Untersuchung ausgeschlossen.

Die Abkalbung erfolgte auf allen Betrieben in Abkalbeboxen mit Stroheinstreu. Dorthin wurden die Tiere frühestens zehn Tage bis zwei Tage vor dem errechneten Abkalbedatum oder direkt zur Kalbung verbracht.

Tabelle 2. Haltung und Fütterung der trockenstehenden Kühe in den letzten sechs bis acht Wochen vor der Kalbung

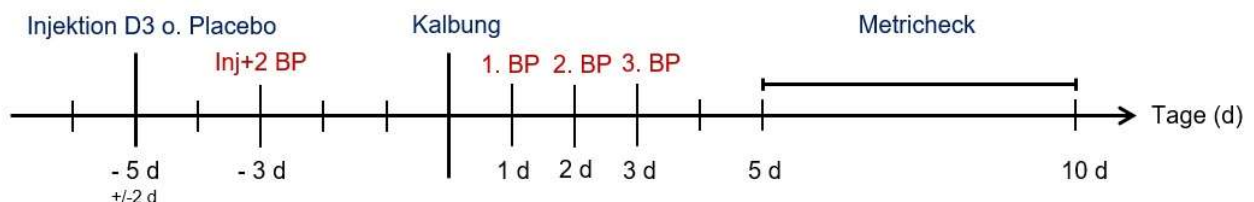
Betrieb	Haltung	Fütterung	Umstallung	Weidehaltung
1	Tiefstreustall	TMR, einphasig	Keine	in den Sommermonaten
2	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	ca. 2-3 Tage vor Abkalbung	teilweise in den Sommermonaten
3	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	ca. 2-3 Tage vor Abkalbung	Nein
4	Weide oder Tiefstreustall	Grassilage + Heu, einphasig	ca. 10 Tage vor Abkalbung	in den Sommermonaten
5	Boxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	ca. 2-3 Tage vor Abkalbung	in den Sommermonaten
6	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, zweiphasig	3 Wochen vor Abkalbung, zur Abkalbung in Abkalbebox	Nein
7	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	zur Abkalbung in Abkalbebox	Nein
8	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	Grassilage + Heu, einphasig	ca. 2-3 Tage vor Abkalbung	in den Sommermonaten
9	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	ca. 2-3 Tage vor Abkalbung	in den Sommermonaten
10	Tiefstreustall	TMR, zweiphasig	3 Wochen vor Abkalbung	Nein
11	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden	TMR, einphasig	ca. 1 Woche vor Kalbung	Nein

3.2 Versuchsdesign

3.2.1 Gruppeneinteilung und Behandlung der Tiere

In den Versuch wurden 446 trockenstehende Milchkühe aus den elf Betrieben aufgenommen. Diese wurden basierend auf einer Zufallsliste, die in Excel (Microsoft Excel Office 2010, Microsoft Deutschland Ltd.) erstellt wurde, randomisiert in eine Behandlungs- und eine Kontrollgruppe aufgeteilt. Erstkalbinnen wurden aufgrund des geringen Hypocalcämierisikos von der Studie ausgeschlossen.

Die Tiere der Behandlungsgruppe erhielten fünf \pm zwei Tage vor dem errechneten Kalbedatum (Datum der letzten Besamung + 280 Tage) eine intramuskuläre Injektion mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (10,0 ml; Ursovit D₃, Serumwerk Bernburg, Bernburg, Deutschland). Die Tiere der Kontrollgruppe wurden zum gleichen Zeitpunkt mit einer intramuskulären Injektion mit 10,0 ml einer physiologischen Kochsalzlösung (NaCl 0,9%, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) behandelt. Auf vier der teilnehmenden Betriebe wurde bei einer Stichprobe von 95 Tieren innerhalb der ersten 24 (1. BP), 24 bis 48 (2. BP) und 48 bis 72 Stunden (3. BP) nach der Kalbung jeweils eine Blutprobe aus der Schwanzvene entnommen. Außerdem wurden bei 38 Tieren zusätzlich zwei Tage nach der Injektion des Cholecalciferols bzw. des Placebos eine weitere Blutprobe entnommen (Inj+2 BP). Im Zeitraum fünf bis zehn Tage nach der Abkalbung erfolgte bei allen Tieren einmalig eine Untersuchung des Vaginalsekrets mittels Metrichecksystems (Simcro, Hamilton, Neuseeland) sowie eine Messung der Rektaltemperatur (Veterinär-Thermometer SC 12, Scala Electronic GmbH, Brandenburg, Deutschland). Weiterhin wurden die Tiere täglich durch die Betriebsmitarbeiter kontrolliert und der Kalbeverlauf, das Geschlecht des Kalbes, das Auftreten von Zwillingen und Totgeburten sowie Retentio secundinarum (Abgang der Nachgeburt > 24 Stunden nach der Kalbung) und Festliegen der Tiere dokumentiert.



Injektion D3: i.m.-Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (10 ml Ursovit D₃)

Injektion Placebo: i.m.-Injektion von isotoner Kochsalzlösung (10 ml NaCl 0,9%)

Abbildung 2. Schematische Darstellung des Zeitpunktes der Behandlung, der Blutprobenentnahmen und der Beurteilung des Vaginalsekrets

Beim Kalbeverlauf wurden die Kategorien „nicht beobachtet“ (Score 0), „beobachtet ohne Geburtshilfe“ (Score 1), „Geburtshilfe durch eine Person“ (Score 2) und „Geburtshilfe durch zwei oder mehr Personen“ (Score 3) unterschieden. Für die spätere Auswertung wurden die Scores 0 und 1 zu Eutokie (physiologischer Kalbeverlauf) und die Scores 2 und 3 zu Dystokie (gestörter Kalbeverlauf) zusammengefasst. Derzeit gibt es keine andere veröffentlichte Studie, die den Effekt einer Injektion von Cholecalciferol a.p. zur Optimierung der Ca-Homöostase nach der Kalbung und den Einfluss auf die Leistung und Tiergesundheit unter Einbeziehung mehrerer Betriebe und mit positiver DCAB untersucht hat. Die Berechnung der Stichprobengröße ergab, dass 396 Tiere ausreichen, um bei einem Fehler erster Art von $\alpha = 0,05$ und einer Power von $\beta = 0,80$ statistisch signifikant feststellen zu können, dass behandelte Tiere keine niedrigere Milchleistung im Vergleich zur Kontrollgruppe haben (Nicht-Unterlegenheitsstudie, Differenz der Milchleistung 2 kg, Standardabweichung 8 kg). Zur Berechnung der Gesamtanzahl wurde die G*Power-Software (Version 3.1.9.2; Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Deutschland) herangezogen. Durch die Einbeziehung von 10% Reservetieren ergibt sich eine Gesamtstichprobe von 450 Tieren (225 Tiere je Gruppe).

Des Weiteren wurde eine Stichprobenkalkulation durchgeführt, um zu ermitteln, von wie vielen Tieren Blutproben genommen werden müssen, um einen statistischen Unterschied der Ca-Konzentration p.p. zwischen Kontroll- und Behandlungsgruppe feststellen zu können. In der vorangegangenen Studie (Venjakob et al. 2022) wurde eine Differenz der Gesamt-Ca-Konzentration von 0,2 mmol/l (Standardabweichung 0,3 mmol/l) zwischen Tieren der Kontrollgruppe und der Behandlungsgruppe (einmalige Injektion mit 12×10^6 I.E. Cholecalciferol) ermittelt. Basierend auf diesen Ergebnissen, einem Fehler erster Art von $\alpha = 0,05$ und einer Power von $\beta = 0,95$ war es erforderlich von 100 Tieren (50 Kontroll- und 50 Behandlungstieren) Blutproben zur Gesamt-Ca-Bestimmung zu entnehmen.

3.2.2 Metrichheck

Das Metrichheck (Simcro, Hamilton, Neuseeland) ist ein ca. 50 cm langer Metall-Stab aus Edelstahl mit einem Griff an einem Ende. An dem anderen Ende befindet sich eine 4 cm große Kappe aus Silikon. Es dient der Gewinnung von Vaginalsekret bei Kühen im puerperalen Zeitraum (Pleticha et al. 2009).

Vor jeder Nutzung wurde das Metrichheck mit einem Desinfektionstuch (kodan wipes, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) desinfiziert. Nach trockener Reinigung der Schamlippen mit Papiertüchern wurden die Schamlippen leicht gespreizt und das Metrichheck mit der Silikonkappe voran in die Vagina eingeführt. Die Silikonkappe wurde bis zum kranialen Ende der Fornix vaginae vorgeschoben. Danach wurde das Metrichheck aus der Vagina

herausgezogen und das anhaftende Vaginalsekret hinsichtlich Farbe, Geruch, Viskosität und Beimengungen beurteilt.

Nach Urton et al. (2005) werden fünf verschiedene Scores unterschieden. Kein anhaftender Schleim oder klarer Schleim am Metrichcheck wird als Score 0 charakterisiert. Bei Score 1 ist der Mukus getrübt oder weist einzelne Eiterflocken auf. Score 2 wird vergeben, wenn der Schleim mukopurulent und stinkend ist, jedoch noch weniger als 50 % Eiter enthält, während bei Score 3 mehr als 50 % Eiter sowie unangenehmer Geruch vorhanden ist. Tiere mit einem Score von 4 wurden als an Metritis erkrankt angesehen. Hier ist das Vaginalsekret wässrig, übelriechend sowie von rötlich-bräunlicher Farbe.

3.3 Probenentnahme und -analyse

3.3.1 Blutproben

Bei einer Teilstichprobe von 95 Tieren wurde jeweils innerhalb der ersten 24, 24 bis 48 und 48 bis 72 Stunden nach der Kalbung eine Blutprobe entnommen. Bei 38 Tieren aus dieser Gruppe wurde zusätzlich bei noch nicht erfolgter Kalbung an Tag zwei nach der Cholecalciferol-Injektion eine weitere Blutprobe entnommen. Zur Blutprobenentnahme wurden die Tiere im Fressgitter fixiert oder auf eine Liegebox getrieben. Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena bzw. Arteria coccygea mediana mittels eines VACUETTE Blutentnahmesystems (greiner bio-one, Kremsmünster, Österreich). Hierzu wurde eine VACUETTE 20G-Mehrfachentnahmekanüle (20G x 1, gelb, steril, 0,90 x 40 mm) auf den Röhrchenhalter geschraubt und die Vena bzw. Arteria coccygea mediana punktiert. Dann wurde das Hinterende der Kanüle durch den Gummistopfen des VACUETTE 8 ml- Serumröhrchen gedrückt und das Blut durch das im Röhrchen enthaltene Vacuum in das Röhrchen gezogen. Nach der Probenentnahme ruhten die Röhrchen mindestens 30 Minuten bei Raumtemperatur, damit das Blut koagulieren konnte. Anschließend erfolgte die Zentrifugation bei 4000 U/min über 10 Minuten (Zentrifuge Hettich EBA 3S, Tuttlingen, Deutschland). Das Serum wurde vorsichtig abpipettiert und auf vier 1,5 ml- Eppendorfgefäße aufgeteilt. Die mit Betrieb, Stallnummer und Blutprobennummer beschrifteten Proben wurden bei -18°C gelagert.

Die Analyse der Ca-, P_i-, und Mg²⁺-Konzentrationen im Serum erfolgte im Labor der Klauentierklinik der Freien Universität Berlin. Für die Analyse der Ca-Konzentration wurde ein Thermo Solaar M6-Atomabsorptionsspektrometer (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts) verwendet. Durch eine Hohlkathodenlampe wird dabei monochromatisches Licht erzeugt, welches dann durch eine Flamme, in der sich die atomisierte Probensubstanz befindet, geleitet wird. Die nicht angeregten Atome in der Flamme absorbieren das Licht. Diese Verminderung der Lichtintensität wird bei der für Ca spezifischen Wellenlänge vor und nach der Atomisierung gemessen (Horncastle 1973). Anhand der Stärke der Absorption kann dann die Konzentration

von Ca in der Probe bestimmt werden (Greiling et al. 1989). Die photometrische Analyse der Gehalte von Mg^{2+} und P_i erfolgte mit Hilfe eines Cobas 8000 c701 (Roche Diagnostics International AG, Basel, Schweiz) Analysegeräts sowie den Testkits LT- P_i 0100 (P) und LT-MG 0103 (Mg^{2+} ; Labor + Technik Eberhard Lehmann GmbH, Berlin, Deutschland).

Bei der Teilstichprobe von 30 Tieren, bei denen insgesamt vier Blutproben genommen wurden, wurde außerdem die Konzentrationen von Cholecalciferol, $25OHD_3$, $1,25(OH)_2D_3$ und $24,25$ -Dihydroxycholecalciferol ($24,25(OH)_2D_3$) im Serum bestimmt. Diese Analyse der Gehalte von Cholecalciferol, $25OHD_3$ und $24,25(OH)_2D_3$ wurde im Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg mittels Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektroskopie (HPLC-MS/MS) durchgeführt. Zu den Serumproben wurden 150 μ l Kaliumhydroxid (10 M), 60 μ l Ascorbinsäure (78,8 mg/ml), 10 μ l Natriumsulfid (2,125 mg/ml), 450 μ l Ethanol sowie 50 μ l des internen Standards (80 ng/ml d_3 - D_3 , 150 ng/ml d_3 - $25OHD_3$ und 200 ng/ml d_6 - $24,25(OH)_2D_3$) hinzugegeben. Danach wurden die Proben mit Stickstoff bedeckt, kurz gemischt und auf einem Thermomixer (Thermomixer comfort, Eppendorf, Wesseling, Deutschland) für drei Stunden bei $37^\circ C$ und unter konstanter Bewegung (600 rpm) inkubiert. Nach Zugabe von 200 μ l Reinstwasser wurden die Proben auf die Extraktionssäulen (Extrelut NT1, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) gegeben und für 10 Minuten darauf inkubiert. Danach erfolgte die Extraktion der Proben von der Säule durch Zugabe von 4 ml *n*-Hexan und 4 ml *n*-Hexan/*tert*-Butylmethylethermischung. Die ablaufende Flüssigkeit wurde gesammelt, mit 1 ml Wasser versetzt und nach zwei Minuten die untere Schicht abpipettiert. Nach Vakuumtrocknung (RVC 2-25 CDplus, Christ, Osterode am Harz, Deutschland) und Evaporation wurden 400 μ l Acetonitril und 100 μ l 4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion (0,75 g/l in Acetonitril) zugegeben und die Proben für eine Stunde bei Raumtemperatur und anschließend bei $4^\circ C$ über Nacht inkubiert. Anschließend wurden die Proben mit 100 μ l Ethanol vermischt, für 15 Minuten inkubiert und erneut vakuumgetrocknet. Die Rückstände wurden in 48 μ l Methanol gelöst und 12 μ l 10 mM Ammoniumformiat hinzugefügt. Abschließend wurden die Proben auf einer Poroshell-Säule (EC-C18, 50 x 4.6 mm², 2.7 μ m) bei $40^\circ C$ aufgetrennt und mittels eines 1260 Hochleistungs-Flüssigchromatographen (HPLC; both Agilent Technologies, Böblingen, Deutschland) und einem gekoppelten QTRAP 5500 Massenspektrometer (AB SCIEX, Darmstadt, Germany) sowie einem Gradienten (5mM Ammoniumformiat/ 0,1% Ameisensäure in Acetonitril und Wasser (1 + 1, v/v) und Acetonitril (Dauer, min/ % Acetonitril, flow, μ l/min: 0.0/0/600, 2.1/0/600, 4.0/23.5/600, 6.0/40/600, 8.0/60/600, 10.0/80/600, 11.0/100/600, 16.0/100/600, 18.0/100/1000, 20.0/100/1000, 21.0/0/1000, 24.0/0/800, 25.0/0/600)) die Gehalte an Cholecalciferol, $25OHD_3$ und $24,25(OH)_2D_3$ bestimmt.

Die Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wurde in einem kommerziellen Labor (Immundiagnostik AG, Bensheim, Deutschland) bestimmt. Zur Aufbereitung der Proben wurden zunächst 100 μL Antikörper-Suspension in die Kavitäten einer Mikrotiterplatte gefüllt. Parallel erfolgte die Zugabe von 600 μL Rekonstitutionslösung zu dem Standard und der Kontrolle. Je 250 μL Standard, Kontrolle oder Probe wurden zur Antikörper-Suspension in die Kavitäten der Mikrotiterplatte gegeben. Dazu wurden 50 μL verdünnter interner Standard pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde für 60 Minuten bei 16 rpm auf einem Rührchen-Rotator (Thermo Tube Revolver, Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts) geschüttelt. Anschließend wurden die flüssigen Bestandteile durch Zentrifugation (Heraeus MegaFuge, Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts) bei 2000 rpm für zwei Minuten entfernt. Durch erneute Zentrifugation bei 2000 rpm für zwei Minuten wurden die Proben dreimal jeweils unter Zugabe einer Waschlösung gereinigt. Es folgte die Elution der Proben durch Zugabe von 250 μL Elutionslösung und anschließend eine erneute Zentrifugation bei 2000 rpm für zwei Minuten. Die flüssigen Lösungsmittel wurden durch Vakuumkonzentration (Speedvac UNIVAPO 150H, UniEquip, Planegg, Bayern) für 60 Minuten entfernt. In jede Kavität der Mikrotiterplatte wurde 50 μL Derivatisierungsreagenz pipettiert und die Platte auf einem Plattenschüttler abgedunkelt für 60 Minuten inkubiert. Danach wurden 25 μL Quenchingreagenz hinzugegeben, um die Reaktion zu stoppen. Durch erneute Vakuumkonzentration (Speedvac UNIVAPO 150H, UniEquip, Planegg, Bayern) für 30 Minuten wurden die flüssigen Bestandteile entfernt. Es erfolgte die Zugabe von 150 μL frisch aktivierter Injektionslösung und die Inkubation auf dem Plattenschüttler bei 1000 rpm für 2 Minuten. Die Mikrotiterplatte wurde in die HPLC-MS (Xevo TQ-XS, Waters GmbH, Eschborn, Deutschland) verbracht und die Proben per Hochleistungs-Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie gemessen.

Bei einer Teilstichprobe von 38 Tieren wurden die Blutproben, die zwei Tage nach der Cholecalciferol-Injektion gewonnen wurden, auf den Gehalt von Progesteron und 17β -Östradiol untersucht. Die Analyse erfolgte im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.

Der Progesteronwert im Serum wurde mittels Enzymimmunoassay (EIA) Progesteron-3-CMO-HRP (Kichmann (2023) modifiziert nach Gottschalk (1999)) bestimmt. Hierzu wurden zunächst Mikrotiterplatten (Nunc GmbH & Co. KG, Langenselbold, Deutschland) mit einem Anti-Kaninchen-IgG vom Schaf (TU München, München, Deutschland), die als Sekundärantikörper fungieren, beschichtet. Die Proben wurden im Verhältnis 1:5 verdünnt. In die einzelnen Kavitäten der Mikrotiterplatten wurden dann jeweils 50 μL der verdünnten Probenlösung, 50 μL des Hormons Progesteron-3-CMO-HRP (TU München, München, Deutschland) in einer Verdünnung von 1:8.000 sowie 50 μL verdünnte Antikörperlösung (hormonspezifisches polyklonales Antiserum vom Kaninchen/Sorte 1, eigene Immunisierung)

in einer Verdünnung von 1:7.500 gegeben. Danach wurden die Platten bei 4°C über zwei Stunden inkubiert und anschließend mit Tween 80 (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) gewaschen. Es folgte die Zugabe von 150 µL Substratlösung mit Tetramethylbenzidin als Chromogen (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Schnelldorf, Deutschland) und eine erneute Inkubation über 30 Minuten bei Raumtemperatur. Durch Zugabe der Stopp-Lösung (H₂SO₄) wurde die Reaktion beendet. Danach wurden die Proben mittels eines Multilabel-Counter Victor 1420 (PerkinElmer LAS Germany GmbH, Rodgau, Deutschland) bei 450 nm fotometrisch analysiert und die Daten mit Hilfe der Software „Workout“ analysiert. Die Analyse wurde als Doppelbestimmung durchgeführt. Die untere Nachweisgrenze des Assays lag bei 0,05 ng/ml. Der Intra- bzw. Interassay-Variationskoeffizient lag bei 10,9 % bzw. 11,3 %.

Auch die Bestimmung von 17β- Östradiol erfolgte mittels eines nach Gottschalk (1999) modifizierten EIA Östradiol-17β-6-CMO-HRP.

Vor der Durchführung des EIA wurden die Serumproben extrahiert. Dies erfolgte durch Zugabe von Diethylether und Inkubation auf einem Schüttler für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend wurde die wässrige Phase ausgefroren. Die Etherphase wurde durch Dekantieren, Eindampfen und Aufnahme durch einen Assaypuffer wieder aus der Probe entfernt. Auch hier wurden für die Durchführung des EIA zunächst Mikrotiterplatten (Nunc GmbH & Co. KG, Langenselbold, Deutschland) mit Anti-Kaninchen-IgG vom Schaf beschichtet. In jede Kavität wurden je 50 µL des Probenextraktes und 50 µL verdünnte Antikörperlösung (hormonspezifisches polyklonales Antiserum vom Kaninchen; Estradiol-Antiserum, Jenapharm, Jena, Deutschland) in einer Verdünnung von 1:500.000 pipettiert. Es wurde eine Verdünnungsreihe zur Eichung mittels unmarkierten 17β-Östradiols (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) erstellt. Der Messbereich erstreckte sich von 20 bis 640 pg/ml. In jede Kavität wurden nun noch einmal 50 µL des Hormons Östradiol-17β-6-CMO-HRP ((TU München, München, Deutschland) in einer Verdünnung von 1:8.000) pipettiert. Über Nacht wurde die Mikrotiterplatte bei 4 °C inkubiert und anschließend mehrfach mit Tween 80 (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) gewaschen. Nach Zugabe von 150 µL Substratlösung mit Tetramethylbenzidin als Chromogen (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Schnelldorf, Deutschland) wurde erneut für 40 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Farbreaktion durch Zugabe von H₂SO₄ gestoppt. Die fotometrische Messung erfolgte mittels Multilabel-Counter Victor 1420 (PerkinElmer LAS Germany GmbH, Rodgau, Deutschland) bei 450 nm und die Auswertung der Daten mittels der Software „Workout“. Die Analyse wurde als Doppelbestimmung durchgeführt. Die untere Nachweisgrenze des Assays lag bei 10 pg/ml. Der Intra- bzw. Interassay-Variationskoeffizient betrug 10,6 % bzw. 12,7 %.

3.3.2 Futterproben

Zur Bestimmung der DCAB wurden während des Untersuchungs- und Beobachtungszeitraums Proben von den Trockensteher- bzw. Vorbereiterrationen genommen. Die Probenentnahme erfolgte an 10 verschiedenen Stellen der frisch auf dem Futtertisch vorgelegten Ration. Die gewonnenen Futterproben wurden in einem 20 l-Eimer noch einmal vermengt und dann eine Teilprobe von ca. 500g in einer Versandtüte verpackt. Diese wurde per Post an die LKS Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft mbH, August-Bebel-Straße 6, 09577 Lichtenwalde versandt. Im Anhang befindet sich eine Tabelle (Tabelle 6) mit den untersuchten Parametern sowie der jeweiligen Untersuchungsmethode.

3.4 Datenerhebung und statistische Auswertung

Die Fruchtbarkeits-, Milchleistungs-, und Abkalbedaten sowie die individuellen Kuhdaten wurden dem jeweiligen Herdenmanagementprogramm des Milchviehbetriebes entnommen und in eine Excel-Tabelle (MS Office 2013, Microsoft Deutschland Ltd., München, Deutschland) übernommen. In den Milchviehbetrieben wurden HerdeW (dsp-Agrosoft, Ketzin, Deutschland), HerdePlus (dsp-Agrosoft, Ketzin, Deutschland) oder C21 (GEA Farm Technologies GmbH, Böhnen, Deutschland) als Herdenmanagementprogramm verwendet. Bei Betrieben, die weder HerdeW oder HerdePlus als Datenmanagement verwendeten, wurde eine Datensicherung über den VIT (Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V., Verden, Deutschland) bezogen, um die Daten einheitlich mit Hilfe von Excel extrahieren zu können. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS (Version 27.0, SPSS Inc., Chicago, USA).

Für die Untersuchung der kontinuierlichen Variablen wie die Ca-, P_i-, Mg²⁺-, Progesteron- und Östradiol-Konzentration im Serum sowie die Milchleistung während der ersten fünf Milchleistungsprüfungen nach der Kalbung wurden generalisierte lineare gemischte Modelle mit einer Messwiederholung verwendet (GENLINMIXED-Prozedur in SPSS). Das Subjekt war die Kuh. Die Entwicklung der Modelle erfolgte gemäß Dohoo et al. (2009).

Für die Untersuchung des Einflusses der Behandlung auf die Mengenelemente (Ca, P_i, Mg²⁺) wurden 95 Tiere beprobt (Kontrolle: n = 46; Behandlung: n = 49). Die Modelle der einzelnen Mengenelemente beinhalteten eine Messwiederholung, da zur Untersuchung Blutproben an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung auf die Ca-, P_i- und Mg²⁺-Konzentration untersucht wurden. Die Kuh war die experimentelle Einheit und der Betrieb wurde als Zufallseffekt betrachtet. Das Modell berücksichtigte den Cluster-Effekt von Kühen innerhalb eines Betriebes. Bei der Einbeziehung der weiteren Einflussfaktoren wurde vor Aufnahme in die gemischten Modelle ein univariates Modell berechnet. Sofern der *P*-Wert im univariaten

Model $\leq 0,10$ lag, wurde der Faktor im gemischten linearen Model berücksichtigt. Die Faktoren wurden als fixe Effekte (d.h. kategoriale Variable) oder als Kovariate (d.h. kontinuierliche Variable) getestet. Faktoren, die im gemischten linearen Model einen P -Wert $> 0,10$ aufwiesen, wurden schrittweise (nach Höhe des P -Wertes) aus dem Model genommen. Die initial im univariaten Model getesteten Einflussfaktoren waren die Behandlung (10 Mio. I.E. Cholecalciferol vs. 10 ml NaCl), der Zeitpunkt der Beprobung (Tag 1, 2 und 3), der Betrieb (1 bis 11), die Laktationsnummer (Laktation 2, 3 und ≥ 4), Dystokie (Ja und Nein), Totgeburt (Ja und Nein), die 305-Tage-Milchleistung der Vorlaktation (kontinuierlich) sowie die Interaktion aus der Behandlung und dem Zeitpunkt. Für Mehrfachvergleiche wurde für den P -Wert die Bonferroni-Korrektur angewendet.

Für die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Behandlung und der Milchleistung während der ersten fünf Milchleistungsprüfungen wurden die Daten von 446 Kühen einbezogen. Das Model zur Milchleistung beinhaltete ebenfalls eine Messwiederholung, da der Einfluss der Behandlung über die ersten fünf Milchleistungsprüfungen untersucht wurde. Abgesehen von dieser Messwiederholung wurden nach gleichem Vorgehen die oben genannten Faktoren in den univariaten Modellen bzw. in dem gemischten linearen Modell berücksichtigt.

Zur Untersuchung des Effektes der Behandlung auf die Progesteron- und Östradiol-Konzentration zwei Tage nach der Behandlung wurden 38 Tiere beprobt (Kontrolle: $n = 19$; Behandlung: $n = 19$). In die Modelle der Progesteron- und Östradiol-Konzentration wurden ebenfalls die oben genannten Faktoren einbezogen. Weiterhin wurde in diesen Modellen das Intervall zwischen dem Zeitpunkt der Probenentnahme zur Progesteron-/Östradiolbestimmung und der Kalbung als Kovariate berücksichtigt. Wie bereits beschrieben wurden die Faktoren initial in einem univariaten Modell getestet. Sofern der P -Wert im univariaten Model $\leq 0,10$ lag wurden die Faktoren für das gemischte lineare Modell berücksichtigt und schrittweise aus dem Modell genommen, wenn der P -Wert im gemischten linearen Modell $> 0,10$ war.

Zur Beurteilung des Effektes der Behandlung auf das Auftreten von Reproduktionserkrankungen (d.h. Retentio secundinarum und Metritis) in der Frühlaktation wurden Kreuztabellen erstellt und der Chi²-Test angewendet.

Um den Einfluss der Behandlung auf die Trächtigkeitsrate bis zum 200. Laktationstag sowie das Merzungsrisiko bis zum 300. Laktationstag zu ermitteln, wurden Cox Proportional Hazard Regressionsmodelle berechnet. Die Cox- Regression erstellt eine Hazard- oder Überlebensfunktion, welche die Zeit bis zum Eintreten eines Ereignisses (Trächtigkeit oder Merzung) unter Berücksichtigung der verschiedenen Gruppen (Behandlung und Kontrolle)

angibt. Bei dem Modell der Trächtigkeitsrate wurden Kühe zensiert, die innerhalb von 200 Laktationstagen tragend wurden. In dem Modell zur Merzung wurden Kühe zensiert, die innerhalb der ersten 300 Laktationstage gemerzt wurden. Kühe wurden als gemerzt betrachtet, wenn sie gestorben sind bzw. euthanasiert wurden oder wenn sie zur Schlachtung verkauft wurden. Hazard- oder Überlebensannahmen wurden durch Auftragen der $-\ln [-\ln (\text{Trächtigkeit oder Merzung})]$ Kurven für Kühe innerhalb der ersten 200 (Trächtigkeit) bzw. 300 Tage in Milch gegen \ln (Hazard- oder Überlebenszeit) erstellt. Die initialen Modelle beinhalteten dieselben Faktoren, die für die gemischten linearen Modelle der Mengenelemente berücksichtigt wurden.

Das Signifikanzniveau war mit $\alpha = 5\%$ ($P < 0,05$) festgelegt. Eine statistische Tendenz war als ein P -Wert $\geq 0,05$ und $P \leq 0,10$ definiert.

Einige der Ergebnisse (Abbildung 3, 6 und 7) sind in Form von Boxplot-Diagrammen dargestellt. Dabei repräsentiert die Mittellinie den Median, das X in der Box den Mittelwert. Die zentrale Box repräsentiert die Werte zwischen den unteren und dem oberen Quartil (Spanne zwischen dem 25%- Perzentil und dem 75%- Perzentil). Die vertikale Linie ist zwischen dem Minimum und Maximum gespannt; ausgenommen sind Werte, die kleiner als das untere Quartil minus dem 1,5-fachen Interquartilsabstand bzw. größer als das obere Quartil plus dem 1,5-fachen Interquartilsabstand sind.

Für die Untersuchung des Einflusses der Behandlung auf die Cholecalciferol-Metabolite (Cholecalciferol, 25OHD_3 , $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $1,24(\text{OH})_2\text{D}_3$) wurden 30 Tiere beprobt (Kontrolle: $n = 15$; Behandlung: $n = 15$). Die Modelle der einzelnen Cholecalciferol- Metabolite beinhalteten eine Messwiederholung, da zur Untersuchung Blutproben zwei Tage nach der Cholecalciferolinjektion sowie an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung genommen wurden. Die Kuh war die experimentelle Einheit und das Modell berücksichtigte den Cluster-Effekt von Kühen innerhalb eines Betriebes. Bei der Einbeziehung der weiteren Einflussfaktoren wurde vor Aufnahme in die gemischten Modelle ein univariates Modell berechnet. Sofern der P -Wert im univariaten Modell $\leq 0,10$ lag, wurde der Faktor im gemischten linearen Modell berücksichtigt. Die Faktoren wurden als fixe Effekte (d.h. kategoriale Variable) getestet. Faktoren, die im gemischten linearen Modell einen P -Wert $> 0,10$ aufwiesen, wurden schrittweise (nach Höhe des P -wertes) aus dem Modell genommen. Die initial im univariaten Modell getesteten Einflussfaktoren waren die Behandlung (10×10^6 IU Cholecalciferol vs. 10 ml NaCl), der Zeitpunkt der Beprobung (Tag 2 nach Behandlung, Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung) sowie die Interaktion aus der Behandlung und dem Zeitpunkt der Beprobung. Für Mehrfachvergleiche wurde für den P -Wert die Bonferroni-Korrektur angewendet.

4 Ergebnisse

4.1 TMR-Analyse der Trockensteherration

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Analyse der Trockensteherrationen der einzelnen Betriebe (1-11). Auf drei Betrieben (Betrieb 1, 4 und 9) wurde Grassilage und Heu zur Fütterung der trockenstehenden Kühe eingesetzt. Alle anderen Betriebe nutzten eine TMR. Die Fütterung war auf 8 von 11 Betrieben einphasig gestaltet. Auf Betrieb 6 und 10 erhielten die trockenstehenden Kühe ab 21 Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine angepasste Vorbereiterration. Die DCAB der Rationen aller Betriebe lag im positiven Bereich. Diese Rationen enthalten also einen Kationenüberschuss. Ein Betrieb, der zunächst in die Studie aufgenommen werden sollte, stellte zu Beginn des Durchführungszeitraums die Fütterung der Trockensteher auf ein zweiphasiges Programm mit Zugabe von anionischen Salzen zu der Ration um. Die TMR-Analyse dieses Betriebes ergab nach der Futterumstellung einen Wert von - 198 mEq/kg TS. Da ein Einschlusskriterium bei der Versuchsdurchführung die Fütterung einer positiven DCAB in der Trockensteller- bzw. Vorbereitergruppe war, wurde der Betrieb von der Untersuchung ausgeschlossen.

Die DCAB- Werte der übrigen Rationen lassen sich in drei Gruppen einteilen: niedrig positive DCAB (0 - 100 mEq/kg TS), moderat positive DCAB (100 - 200 mEq/kg TS), deutlich positive DCAB (> 200 mEq/kg TS). In die Gruppe mit einer niedrig positiven DCAB sind die Betriebe 1, 6, 10 und 12 einzuordnen. Eine DCAB zwischen 100 und 200 mEq/kg TS wiesen die Betriebe 2, 3, 5 und 8 auf. Eine DCAB von über 200 fand sich in den Rationen der Betriebe 4, 9 und 12. Der Ca-Gehalt der Rationen lag auf den Betrieben 1, 5, 8, 10 und 11 zwischen 4,0 und 6,0 g/kg TS. Auf den Betrieben 2, 3, 4 und 9 lag der Ca-Gehalt zwischen 6,0 und 8,0 g/kg TS. Betrieb 6 hatte mit 8,5 g/kg TS den höchsten Ca-Wert in der Vorbereiterration. Anhand des Cl-Gehalts der Rationen lassen sich drei Gruppen unterscheiden: Der Cl-Gehalt der Ration der Betriebe 6 und 7 lag unter 5 g/kg TS und der der Betriebe 8 und 11 über 10 g/kg TS. Die Cl-Gehalte der Rationen der übrigen Betriebe lagen zwischen 5,0 und 10 g/kg TS. K⁺-Gehalte über 20,0 g/kg TS fanden sich in den Rationen der Betriebe 3, 8 und 11. Der K⁺-Gehalt auf den Betrieben 4 und 5 lag zwischen 16,0 und 20,0 g/kg TS. Auf den übrigen Betrieben lag der K⁺-Gehalt zwischen 13,0 und 16,0 g/kg TS.

Tabelle 3. Ergebnisse der TMR-Analyse der Trockensteher-/ Vorbereiterrationen

Betrieb	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Trocken- substanz (%)	46,4	44,8	41,2	40,4	29,8	38,2	43,3	31,2	49,4	45,5	33,5
Rohasche (g/kg TS)	76	75	118	92	91	74	74	102	163	73	102
Rohprotein (g/kg TS)	127	138	148	157	153	138	117	163	155	130	132
Rohfaser (g/kg TS)	261	227	247	183	258	216	258	171	256	230	262
Stärke (g/kg TS)	76	186	66	129	115	229	174		55	181	100
Zucker (g/kg TS)	64	43	37	67	10	20	25	17	37	23	33
NDF (g/kg TS)	494	437	467	376	460	426	496	541	495	444	501
ADF (g/kg TS)	278	239	267	218	284	237	292	322	281	262	284
Calcium (g/kg TS)	4,0	7,2	6,4	6,5	5,6	8,5	6,2	5,3	7,4	4,0	5,6
Phosphor (g/kg TS)	2,7	3,2	3,2	3,3	3,4	3,6	3,9	2,8	2,9	2,8	3,9
Natrium (g/kg TS)	3,0	1,4	1,7	2,9	2,2	1,0	1,4	3,9	4,1	0,4	1,5
Magnesium (g/kg TS)	2,5	3,1	3,5	2,1	2,9	3,8	3,3	2,7	3,2	3,8	3,7
Kalium (g/kg TS)	14,0	14,8	23,5	19,7	19,8	13,6	14,5	29,1	15,6	15,1	22,8
Chlorid (g/kg TS)	8,9	7,1	9,5	8,5	9,2	4,7	4,4	15,6	9,7	6,1	10,4
Schwefel (g/kg TS)	2,7	2,2	4,7	2,2	2,9	3,5	2,6	3,2	4,2	3,1	2,5
NEL (MJ)	5,3	6,2	6,1	7,0	5,9	6,3	5,3	5,6	6,0	5,9	5,5
nRP (g/kg TS)	126	142	142	157	142	143	123	129	141	135	130
DCAB (mEq/kg TS)	72	107	116	258	167	40	143	280	45	37	202

TS = Trockensubstanz

NEL = Netto-Energie-Laktation

nRP = nutzbares Rohprotein

NDF = neutral detergent fiber

ADF = acid detergent fiber

DCAB = dietary cation anion balance

4.2 Abkalbungen, Trächtigkeitsdauer, Behandlungstag

Tabelle 4. Übersicht Kalbungen, Trächtigkeitsdauer und Zeitpunkt der Behandlung im Dokumentationszeitraum

Betrieb	Anzahl Kalbungen gesamt	Anzahl behandelter Tiere	Ø – Trächtigkeitsdauer	Ø - Behandlungstag	Ø - Intervall Behandlung – Kalbung
1	23	16	286,3 ± 5,8	276,3 ± 1,06	10 ± 5,74
2	62	41	282,9 ± 4,21	276 ± 1,52	6,9 ± 4,44
3	78	72	282,3 ± 5,27	274,6 ± 1,27	7,7 ± 5,13
4	56	47	283,4 ± 4,47	276,2 ± 1,41	7,1 ± 4,37
5	50	24	283,3 ± 5,27	276,2 ± 1,68	7,2 ± 5,54
6	104	70	281,5 ± 4,94	275,7 ± 1,56	5,8 ± 4,88
7	82	56	282,7 ± 4,58	275,9 ± 1,32	6,8 ± 4,62
8	35	24	281 ± 4,78	275,3 ± 1,49	5,7 ± 4,87
9	59	44	282,4 ± 4,45	275,9 ± 1,49	6,5 ± 4,49
10	84	57	280,1 ± 3,09	275,5 ± 1,59	4,6 ± 3,57
11	62	14	285,5 ± 10,53	275,7 ± 1,06	9,8 ± 10,96
Ø			282,9 ± 5,22	275,5 ± 1,4	7,1 ± 5,33

In Tabelle 4 sind die Anzahl der Abkalbungen und der behandelten Tiere sowie die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer, der durchschnittliche Behandlungstag und das durchschnittliche Intervall zwischen Behandlung und Kalbung im Durchführungszeitraum dargestellt. Die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer der Betriebe war sehr variabel. Auch tierindividuell gab es große Unterschiede. Der Zeitpunkt der Injektion sollte am 275. Tag der Trächtigkeit (275. Tag nach der letzten Besamung) mit einer tolerierten Abweichung von zwei Tagen durchgeführt werden. Aufgrund der verlängerten Trächtigkeitsdauer auf einigen Betrieben wurde der Injektionszeitpunkt nach ca. drei Monaten im Durchführungszeitraum auf den 277. Tag ± zwei Tage festgelegt. Tiere, die vor dem 273. bzw. 275. Trächtigkeitstag gekalbt hatten, konnten in der Studie nicht berücksichtigt werden.

In Abbildung 3 ist die Variation der Trächtigkeitsdauer auf den verschiedenen Betrieben dargestellt. Es wird deutlich, dass es betriebsindividuell große Unterschiede gab mit einer mehr oder minder breiten Streuung der Trächtigkeitsdauer.

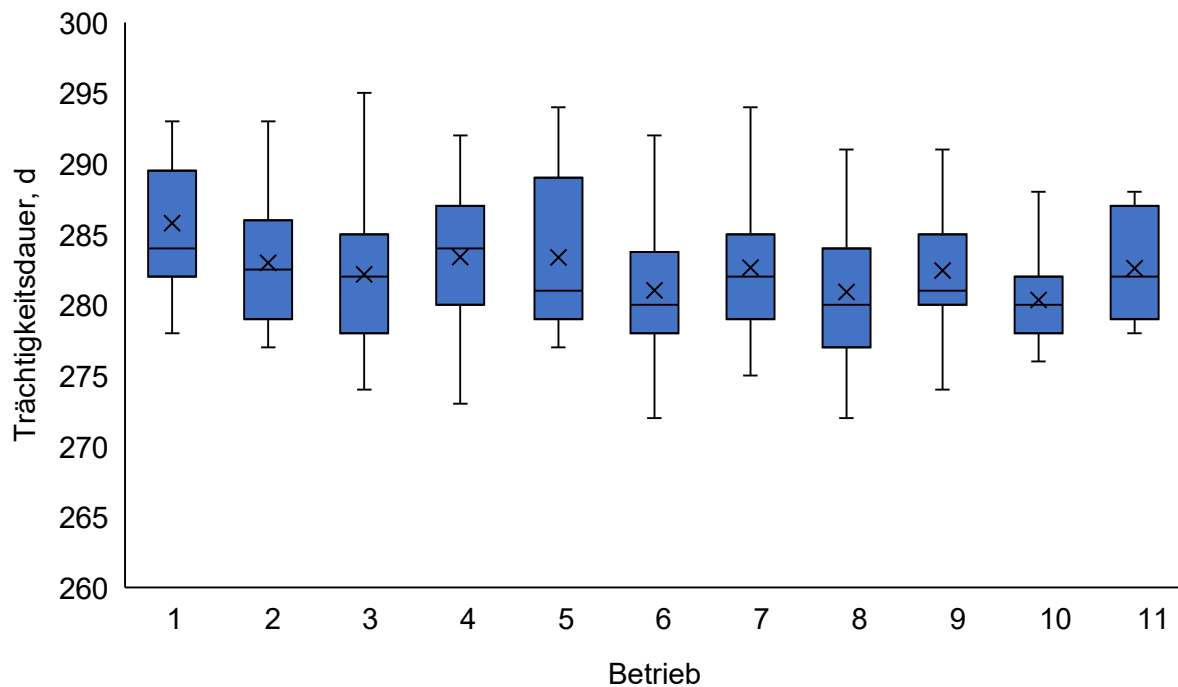


Abbildung 3. Boxplots der Variation der Trächtigkeitsdauer aller in die Studie aufgenommenen Tiere (n = 446), aufgetragen nach Betrieben (n = 11)

4.3 Totgeburten, Kalbeverlauf, klinische Hypocalcämie und Retentio secundinarum

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die die Behandlungs- und Kontrollgruppe charakterisierenden Merkmale. Mit Ausnahme des Auftretens von Retentio secundinarum konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontroll- und der Behandlungsgruppe bei den in der Tabelle dargestellten Parametern gefunden werden. Es gab jedoch eine Tendenz, dass in der Gruppe der sieben Tage vor dem errechneten Kalbetermin mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelten Tieren eine höhere Totgeburtenrate vorliegt. Die Laktationsnummer, die Trächtigkeitsdauer und das Intervall von der Behandlung bis zur Kalbung sind in beiden Gruppen nahezu gleich verteilt.

Tabelle 5. Charakterisierung von Kontroll- und Behandlungsgruppe

Variable	Kontrollgruppe (n = 216)	Behandlungsgruppe (n = 230)	P-Wert
Laktationsnummer			0,584
2, n (%)	67 (31,0)	69 (30,0)	
3, n (%)	55 (25,5)	53 (23,0)	
≥ 4, n (%)	94 (43,5)	108 (47,0)	
Ø Trächtigkeitsdauer, d	282,4 (± 0,4)	282,5 (± 0,3)	0,710
Ø Intervall Behandlung bis Kalbung, d	6,7 (± 0,4)	6,9 (± 0,3)	0,691
Kalbeverlauf¹			0,296
Eutokie, n (%)	181 (83,8)	194 (84,3)	
Dystokie, n (%)	35 (16,2)	36 (15,7)	
Totgeburten, n (%)	3 (1,4)	9 (3,9)	0,100
Retentio secundinarum, n (%)	17 (7,9)	34 (14,8)	0,021
Klinische Hypocalcämie, n (%)	21 (9,7)	29 (12,7)	0,327

¹ Kalbeverlauf: Eutokie = Abkalbung ohne Geburthilfe, Dystokie = Geburtshilfe durch eine oder mehrere Personen

4.4 Blutproben

4.4.1 Calcium, Phosphor und Magnesium

Die nachfolgende Abbildung 4 zeigt die Serum-Konzentrationen von Ca (A), P_i (B) und Mg^{2+} (C) an den ersten drei Tagen nach der Kalbung bei einer Stichprobe von 95 Tieren (Behandlung = 49 Tiere; Kontrolle = 46 Tiere). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm der Standardfehler der Least-Square-Schätzungen des gemischten linearen Modells. Kühe, die sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine intramuskuläre Injektion mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol erhielten, hatten in den ersten drei Tagen p.p. durchschnittlich numerisch höhere Serum-Ca-Werte im Vergleich zu Tieren, die mit 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung behandelt wurden ($P = 0,08$). Ein Einfluss der Interaktion von Zeitpunkt der Probennahme und Behandlung auf die Serum-Ca-Konzentration wurde nicht gefunden ($P = 0,57$). Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Beprobung und der Serum-Ca-Konzentration festgestellt werden ($P < 0,01$). Sowohl in der Behandlungs- wie auch in der Kontrollgruppe war die Serum-Ca-Konzentration am ersten Tag nach der Kalbung am niedrigsten. Danach stieg sie an Tag 2 und 3 p.p. stetig an. Erst an Tag 3 nach der Kalbung erreichte sie bei beiden Gruppen Durchschnittswerte über 2,0 mmol/l. Des Weiteren gab es einen Zusammenhang zwischen der Laktationsnummer ($P < 0,01$) und der Serum-Ca-Konzentration.

Der Verlauf der P_i -Werte im Serum verhielt sich in beiden Gruppen ähnlich dem Verlauf des Serum-Ca-Spiegels. Zu allen drei Zeitpunkten nach der Kalbung hatten die Tiere der Behandlungsgruppe signifikant höhere P_i -Werte als die Tiere der Kontrollgruppe ($P < 0,05$). Eine Assoziation der Serum- P_i -Konzentration mit der Interaktion von Zeitpunkt der Blutprobenentnahme und Behandlung gab es ebenfalls nicht ($P = 0,85$). Weiterhin gab es einen Zusammenhang zwischen der P_i -Konzentration und der Laktationsnummer ($P < 0,05$) sowie dem Zeitpunkt nach der Kalbung ($P < 0,05$).

Die Serum-Konzentration von Mg^{2+} war an allen drei Tagen nach der Kalbung in der Behandlungsgruppe signifikant niedriger ($P < 0,01$). Die Interaktion des Zeitpunktes der Beprobung und der Behandlung hatte ebenso wie bei den Serum-Konzentrationen von P_i und Ca keinen Einfluss auf die Serum- Mg^{2+} -Konzentration ($P = 0,50$).

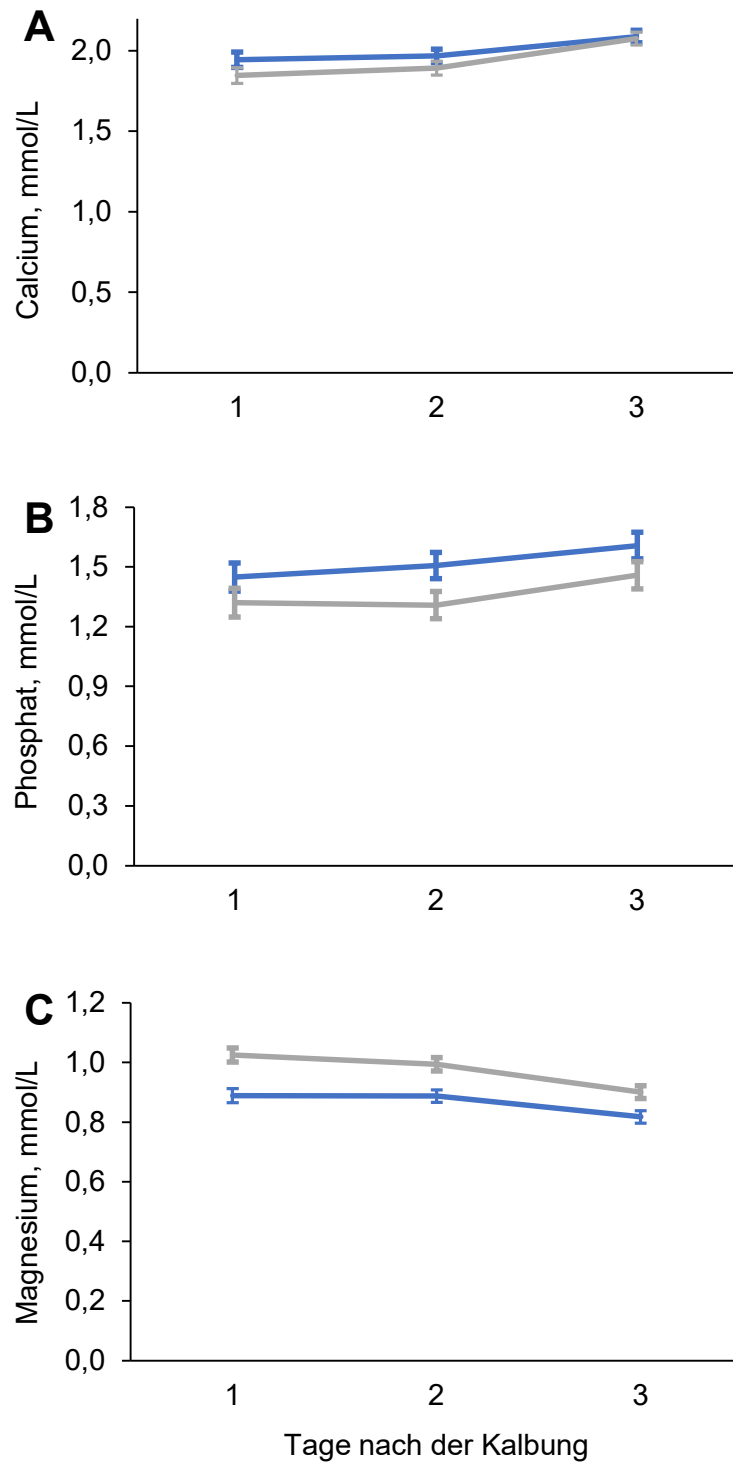


Abbildung 4. Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die Serum-Konzentrationen von Calcium (A), Phosphat (B) und Magnesium (C) in mmol/l in den ersten drei Tagen p.p. bei pluriparen Milchkühen (n = 95; Behandlung = 49; Kontrolle = 46)

4.4.2 Cholecalciferolmetaboliten

Abbildung 5 zeigt die Serum-Werte von Cholecalciferol, 25OHD_3 und $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zwei Tage nach der Injektion bei einer Stichprobe der ca. sieben Tage vor der errechneten Kalbung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol bzw. 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung behandelten pluriparen Milchkühe.

Die Cholecalciferol-Konzentration lag fünf Tage vor dem errechneten Kalbedatum und ca. zwei Tage nach der Injektion des Cholecalciferols in der Kontrollgruppe durchschnittlich bei 4,6 ng/ml. Der Wert der Tiere der Behandlungsgruppe war mit 464,0 ng/ml etwa 100-fach so hoch. In den Tagen nach der Kalbung sank der Wert in der Behandlungsgruppe auf 131,8 ng/ml an Tag 1 p.p., 91,1 ng/ml an Tag 2 p.p. und 67,7 ng/ml an Tag 3 p.p. ab. Die Werte der Kontrollgruppe lagen an allen drei Tagen nach der Kalbung auf einem ähnlichen Niveau von 2,5 ng/ml, 3,0 ng/ml und 2,5 ng/ml.

Die Konzentration von 25OHD_3 stieg innerhalb von zwei Tagen nach der Injektion von durchschnittlich 153,0 ng/mL an Tag fünf vor der Kalbung auf 196,4 ng/ml, 205,5 ng/ml und 197,9 ng/ml an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung in der Behandlungsgruppe. In der Kontrollgruppe lag die 25OHD_3 -Konzentration zu allen Zeitpunkten ungefähr bei 50,0 ng/ml.

An Tag fünf vor der Kalbung betrug die Konzentration von $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Behandlungsgruppe 7,7 ng/ml und in der Kontrollgruppe 3,6 ng/ml. In der Kontrollgruppe blieb die Konzentration über die drei Tage nach der Kalbung hinweg konstant bei 3,6 - 3,7 ng/ml. In der Behandlungsgruppe stieg der Wert bis Tag 1 p.p. auf 21,9 ng/ml. An Tag 2 und 3 p.p. blieb die $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration mit 24,1 ng/ml und 24,3 ng/ml auf einem ähnlichen Niveau.

Die statistische Auswertung mittels eines gemischten linearen Modells ergab für alle drei Parameter eine hochsignifikante Assoziation ($P < 0,01$) mit der Behandlung, dem Zeitpunkt der Beprobung und der Interaktion aus Behandlung und Zeitpunkt der Beprobung.

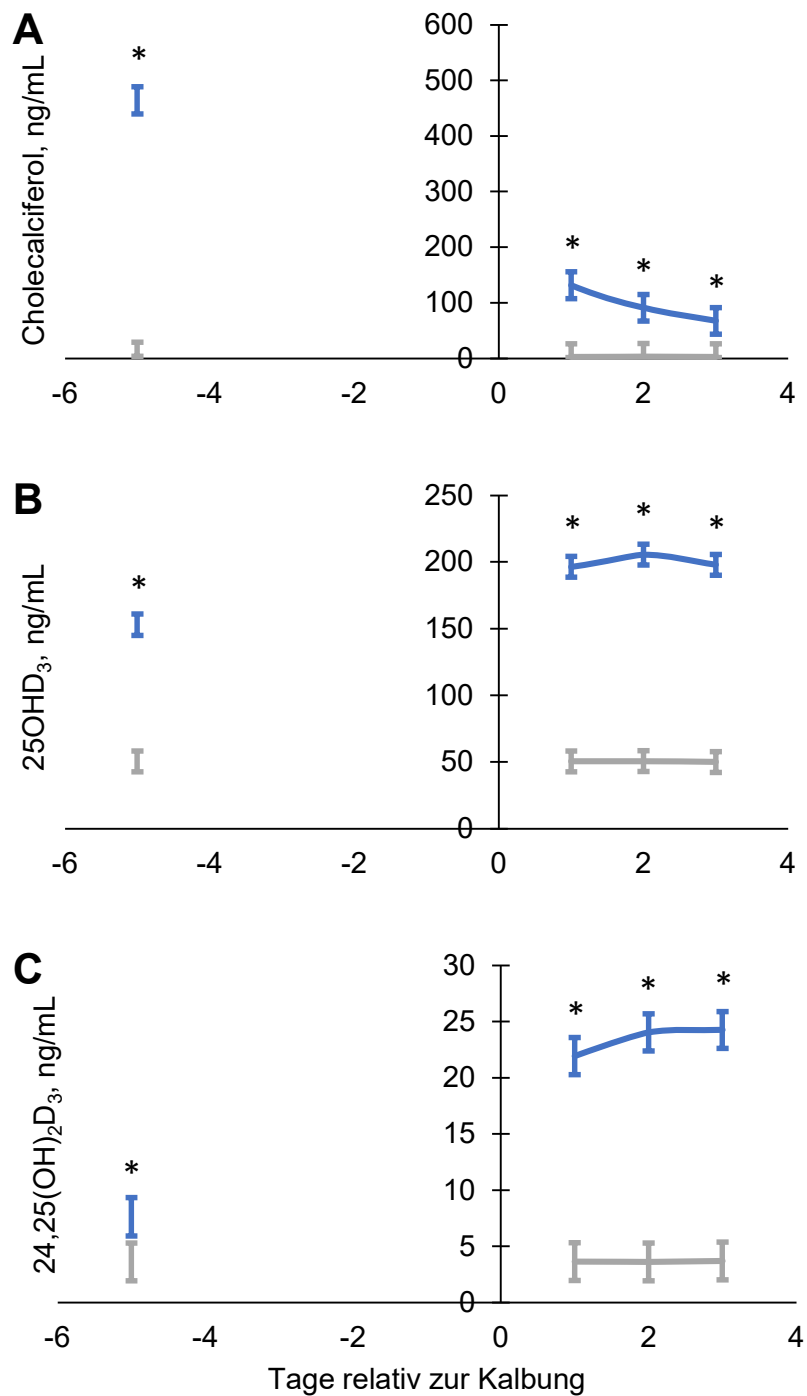


Abbildung 5. Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf die Serum-Konzentration von Cholecalciferol (A), 25OHD₃ (B) und 24,25(OH)₂D₃ (C) in ng/ml fünf Tage ante und drei Tage post partum bei pluriparen Milchkühen (n = 30, Behandlung = 15; Kontrolle = 15; * markiert einen signifikanten Unterschied)

In Abbildung 6 sind die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte im Serum einer Stichprobe der sieben Tage vor der Kalbung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol oder 10 ml 0,9%iger Natriumchloridlösung behandelten Milchkühe zwei Tage nach der Injektion und an den ersten drei Tagen p.p. dargestellt. Es konnte ein signifikanter Effekt der Interaktion aus Zeitpunkt und Behandlung festgestellt werden ($P < 0,01$). Fünf Tage vor der Kalbung war die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration im Blut der behandelten Tiere signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($P < 0,01$). Bis zur Kalbung stieg sie von 89,2 pg/ml im Serum der Behandlungs- und 34,9 pg/ml im Serum der Kontrollgruppe in beiden Gruppen an und erreichte einen Tag p.p. einen Wert von 100,7 pg/ml in der Behandlungs- und 110,3 pg/ml in der Kontrollgruppe. Nach der Kalbung stieg der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Wert in der Kontrollgruppe sprunghaft auf 166,0 an Tag 2 p.p. an und sank bis Tag 3 auf 155,4 pg/ml. In der Behandlungsgruppe gab es nur einen leichten Anstieg auf 122,9 pg/ml an Tag zwei p.p. und einen Abfall auf 101,6 pg/ml an Tag drei p.p..

Einen und zwei Tage nach der Kalbung gab es keinen signifikanten Unterschied der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration im Serum der Behandlungs- und der Kontrollgruppe. An Tag drei p.p. war die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration jedoch in der Kontrollgruppe signifikant höher als bei den mit Cholecalciferol behandelten Tieren ($P = 0,029$). Die Assoziation von Behandlung und den Zeitpunkten der Blutprobenentnahme war signifikant ($P < 0,01$).

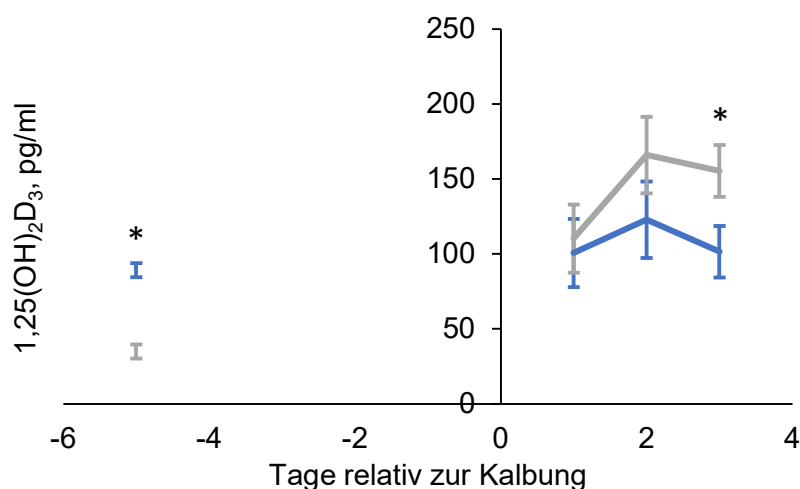


Abbildung 6. Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf die Serum-Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in pg/ml fünf Tage ante und drei Tage post partum bei pluriparen Milchkühen ($n = 30$, Behandlung = 15; Kontrolle = 15; * markiert einen signifikanten Unterschied)

4.4.3 Progesteron und Östradiol

Bei der Analyse, ob die Behandlung mit Cholecalciferol einen Effekt auf die Progesteron-Konzentration im Serum zwei Tage nach der Injektion hatte, konnte kein Behandlungseffekt beobachtet werden ($P = 0,81$). Es gab jedoch einen Effekt des Intervalls zwischen Behandlung und Kalbung ($P < 0,05$) sowie einen Betriebseffekt ($P < 0,01$; Abbildung 7). Es zeigt sich betriebsabhängig eine unterschiedlich starke Streuung der Werte und deutliche Unterschiede bei den Mittelwerten.

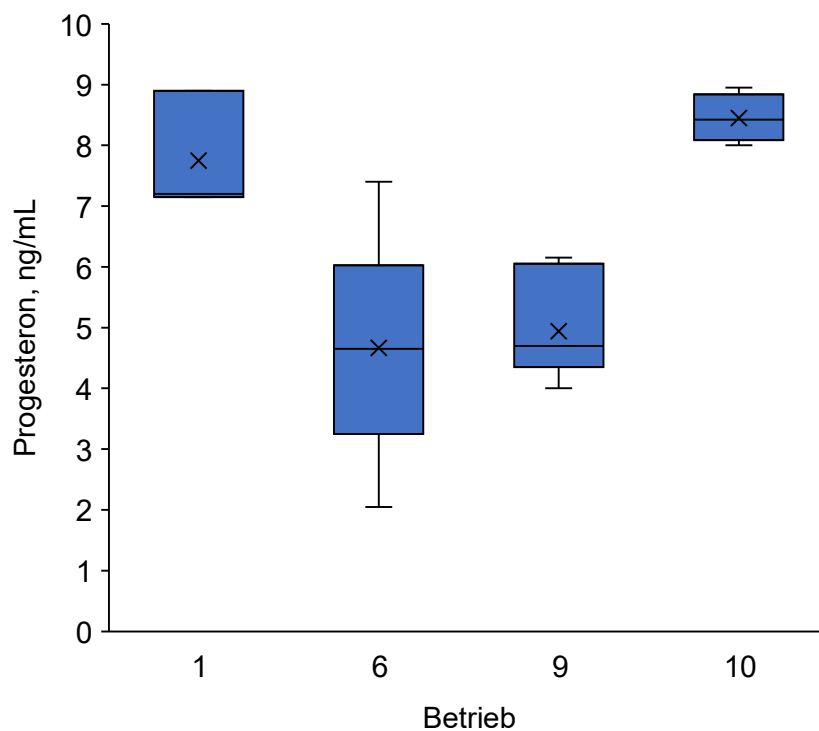


Abbildung 7. Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Progesteron-Konzentration zwei Tage nach der Injektion von 10 Mio I.E. Cholecalciferol bzw. 10 ml NaCl 0,9% und dem Betrieb als Boxplots (n = 38, Behandlung = 19, Kontrolle = 19)

Auch bei der Auswertung der Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die Östradiol-Konzentration zwei Tage post injectionem konnte kein Effekt der Behandlung festgestellt werden ($P = 0,67$). Es gab allerdings eine signifikante Assoziation mit dem Intervall zwischen Behandlung und Kalbung ($P < 0,01$) und einen Zusammenhang mit der Laktationsnummer ($P < 0,05$). Dieser ist in der nachfolgenden Abbildung 8 dargestellt. Tiere in der dritten und vierten Laktation hatten tendenziell höhere Östradiol-Werte als Tiere in der zweiten Laktation.

Sowohl bei der Progesteron- als auch bei der Östradiol-Konzentration im Serum zwei Tage post injectionem zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Intervalls zwischen Behandlung und Kalbung (Progesteron: $P < 0,05$; Östradiol: $P < 0,01$). Tiere, die innerhalb von zwei bis vier Tagen nach der Injektion gekalbt hatten ($n = 13$), hatten durchschnittlich höhere Östradiol- und niedrigere Progesteron-Werte als Tiere, die mehr als vier Tage nach der Injektion gekalbt hatten ($n = 25$).

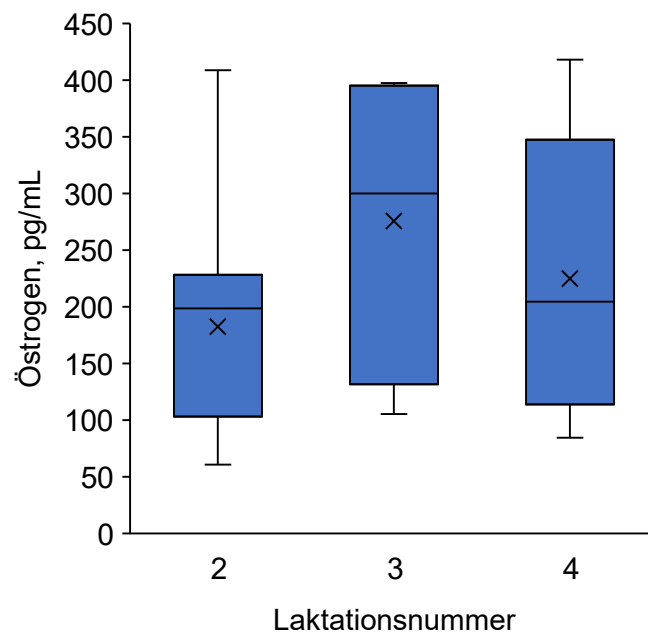


Abbildung 8. Darstellung des Effektes der Laktationsnummer auf die Östradiol-Konzentration zwei Tage nach einer Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung sieben Tage vor der errechneten Kalbung in Form von Boxplots ($n = 38$, Behandlung = 19, Kontrolle = 19)

4.5 Metriceck

In der Abbildung 9 sind die Ergebnisse der Auswertung des fünf bis zehn Tage nach der Kalbung erhobenen Metritis Scores dargestellt. Mit Hilfe des Metriceck wurde Vaginalschleim gewonnen und dieser nach dem Scoring-System nach Urton et al. (2005) beurteilt. Bei nicht vorhandenem oder klarem Mukus wurde Score 0 vergeben. Trüber oder mit Eiterflocken versetzter Schleim bekam den Score 1. Mukopurulenter Schleim ($\leq 50\%$ Eiter) mit fauligem Geruch erhielt den Score 2. Purulenter Schleim ($\geq 50\%$ Eiter) mit fauligem Geruch wurde mit dem Score 3 bewertet. Rot-bräunlicher, wässriger, faulig riechender Ausfluss wird nach Urton et al. (2005) dem Score 4 zugeordnet. Kühe, die sieben Tage vor der Kalbung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelt wurden, hatten fünf bis zehn Tage p.p. keinen höheren Metritis Score als Kühe, die mit Kochsalzlösung behandelt wurden ($P = 0,67$).

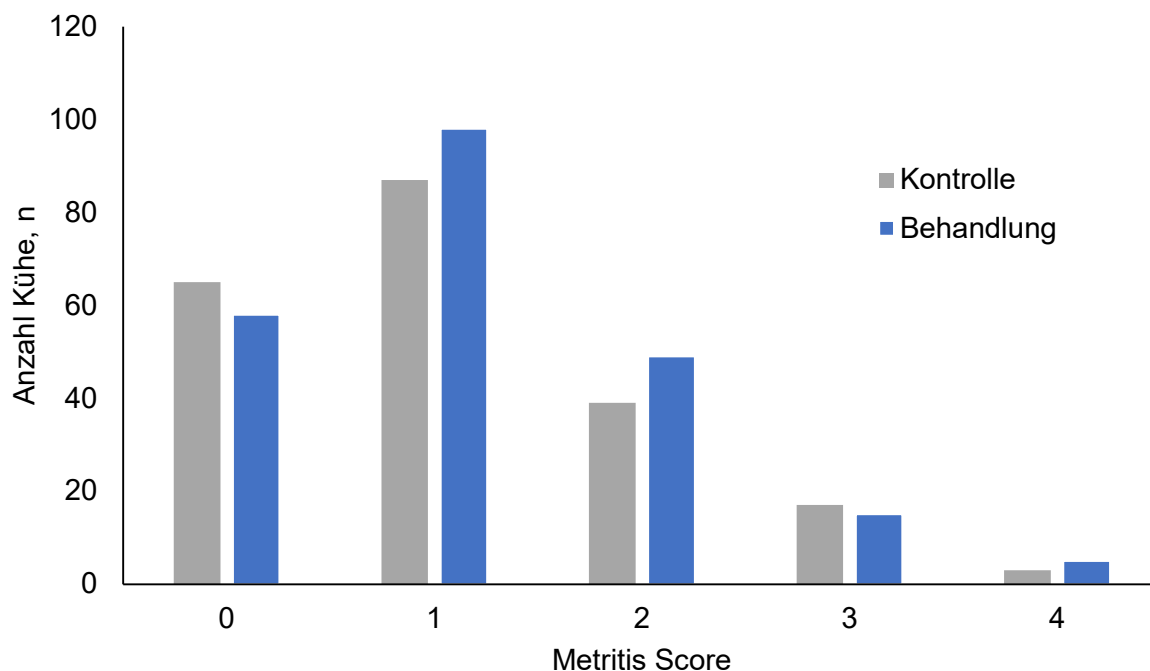


Abbildung 9. Darstellung der mit Hilfe des Metriceck 5 bis 10 Tage p.p. ermittelten Metritis Scores von pluriparen Milchkühen, die sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine intramuskuläre Injektion mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung) oder 10 ml 0,9%ige- Natriumchloridlösung (Kontrolle) erhielten (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).

4.6 Milchmenge

Abbildung 10 zeigt die energiekorrigierte Milchleistung der Behandlungs- und Kontrollgruppe in den ersten fünf Milchleistungsprüfungen nach der Kalbung. Dargestellt sind der Mittelwert \pm der Standardfehler des Mittelwertes des gemischte linearen Modells mit Messwiederholungen. Die Milchproduktion der ersten fünf Milchleistungsprüfungen p.p. war

signifikant assoziiert mit dem Betrieb ($P < 0,01$), der Nummer der Milchleistungsprüfung ($P < 0,01$), der Laktationsnummer ($P < 0,05$), der 305-Tage-Milchleistung der Vorlaktation ($P < 0,01$) und der Inzidenz von Totgeburten ($P < 0,05$). Die Behandlung ($P = 0,67$) und die Interaktion von Behandlung und der Nummer der Milchleistungsprüfung ($P = 0,75$) hatten keinen Effekt auf die Milchleistung.

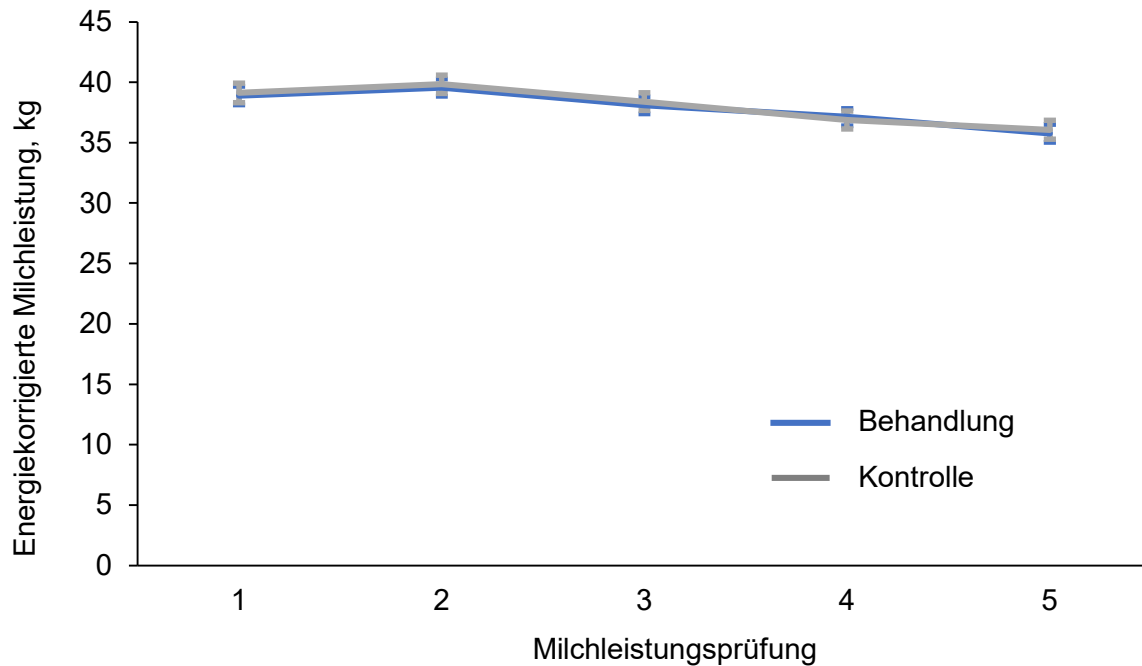


Abbildung 10. Effekt einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung) oder 10 ml 0,9%ige Natriumchloridlösung (Kontrolle) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die energiekorrigierte Milchleistung in kg der ersten fünf Milchleistungsprüfungen p.p. bei pluriparen Milchkühen ($n = 446$, Behandlung = 230, Kontrolle = 216)

4.7 Gützeit

In der nachfolgenden Abbildung 11 ist der Anteil der noch nicht tragenden Tiere, die an der Studie teilgenommen hatten, in Abhängigkeit von der Zeit nach der Kalbung dargestellt. Der Anteil der tragenden Tiere nahm über die Dauer des Beobachtungszeitraumes kontinuierlich zu. Die Kurven der behandelten Tiere und der Kontrolltiere verliefen gleich. Die Behandlung hatte keine Auswirkung auf die Gützeit ($P = 0,71$), es konnte jedoch eine Assoziation mit dem Betrieb ($P < 0,01$) und mit der Laktationsnummer ($P = 0,09$) gefunden werden.

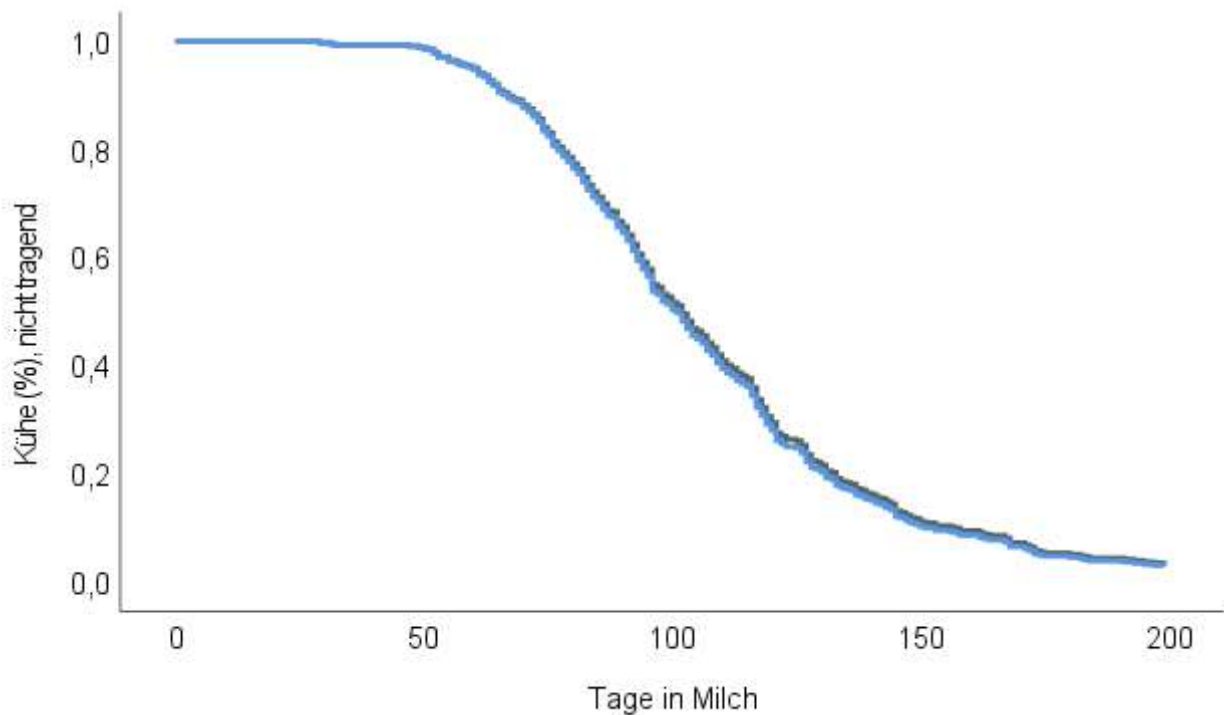


Abbildung 11. Darstellung der Kaplan-Meier-Analyse des Effektes einer Behandlung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum auf die Gützeit bis 200 Tage in Milch bei pluriparen Milchkühen ($n = 446$, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).

4.8 Abgangsrate

Abbildung 12 zeigt den Anteil der während des Untersuchungszeitraumes gemerzten Tiere in Abhängigkeit von der Zeit. Die Behandlung mit Cholecalciferol hatte keinen Einfluss auf das Merzungsrisiko innerhalb der ersten 300 Tage nach der Kalbung ($P = 0,12$). Es gab allerdings einen Zusammenhang des Merzungsrisikos mit der Laktationsnummer ($P < 0,01$). Je höher die Laktationsnummer, desto höher war das Risiko einer Merzung.

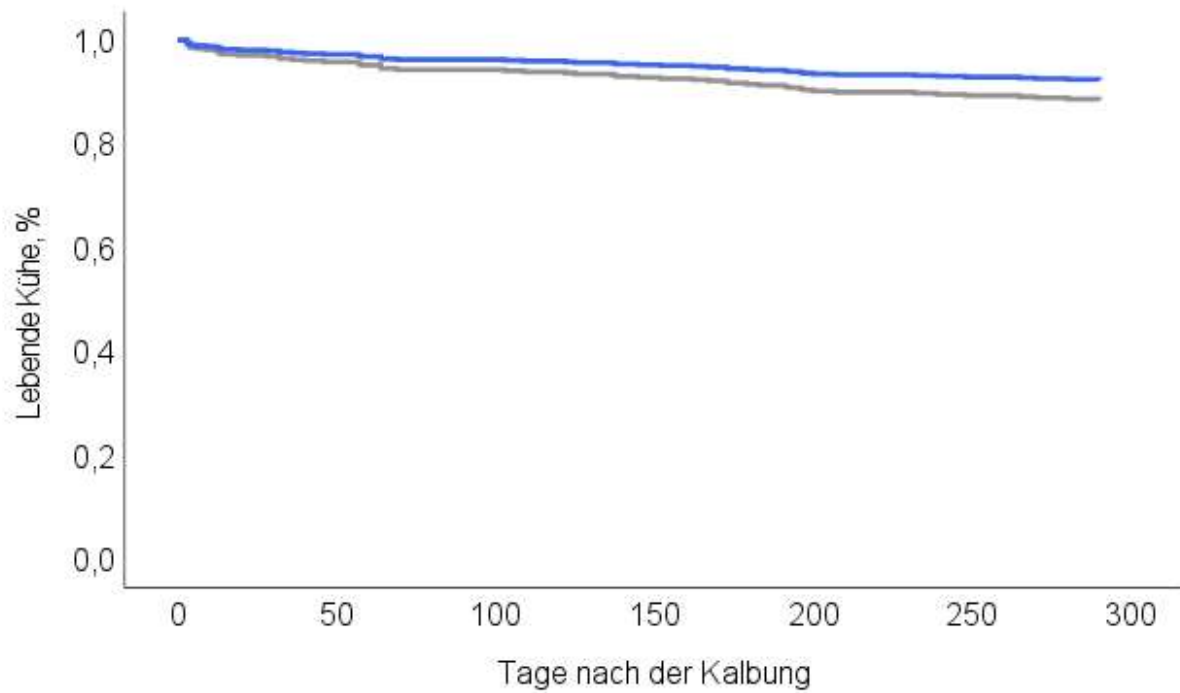


Abbildung 12. Darstellung der Kaplan-Meier-Analyse des Effektes einer Behandlung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol (Behandlung, blau) oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung (Kontrolle, grau) sieben Tage vor der errechneten Kalbung auf das Merzungsrisiko innerhalb der ersten 300 Laktationstage bei pluriparen Milchkühen (n = 446, Behandlung = 230, Kontrolle = 216).

5 Diskussion

Ziel des Versuchsvorhabens war es, bei Betrieben mit einer positiven DCAB (≥ 0 mEq/kg TS) in der Vorbereiterfütterung den Einfluss einer Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol ca. fünf Tage vor der erwarteten Kalbung auf die Serum-Ca-Dynamik p.p. sowie die Milchproduktion, das Auftreten von Retentio secundinarum und Metritis in der nachfolgenden Laktation zu untersuchen. So sollte unter angepassten Bedingungen bestimmt werden, inwiefern die Ergebnisse der Studie von Venjakob et al. (2022) reproduzierbar sind.

In der vorliegenden Untersuchung konnte durch die Cholecalciferol-Injektion durchschnittlich sieben Tage vor dem errechneten Kalbedatum ein geringer positiver Effekt auf den Serum-Ca-Spiegel in den ersten drei Tagen p.p. festgestellt werden. Es ergaben sich hinsichtlich des Kalbeverlaufs, der Inzidenz klinischer Hypocalcämie sowie der Gehalte an Progesteron und Östradiol zwei Tage nach der Injektion im Serum der behandelten Milchkühe keine Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe. In der Behandlungsgruppe gab es eine Tendenz zu einer höheren Inzidenz von Totgeburten und die Inzidenz von Retentio secundinarum war signifikant höher. Die Milchleistung, Gützeit und das Risiko für Merzung in der Folgelaktation unterschieden sich jedoch nicht. Die Analyse der Konzentrationen von Cholecalciferol, 25OHD_3 und $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ fünf Tage vor und in den drei Tagen nach der Kalbung im Serum der Tiere zeigte einen deutlichen Anstieg dieser Verbindungen bereits zwei Tage nach der Injektion: Die Auswertung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration ergab vor der Kalbung einen starken Anstieg in der Behandlungsgruppe, nach der Kalbung jedoch einen deutlicheren Anstieg und an Tag drei p.p. eine signifikant höhere Konzentration in der Kontrollgruppe.

In der von Venjakob et al. (2022) im Jahr 2021 durchgeführten Studie wurden die Auswirkungen einer intramuskulären Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol am 275. Tag der Trächtigkeit zum einen auf die Serum-Ca-Dynamik p.p. und zum anderen auf die Milchleistung und die Gesundheit der Milchkühe in der Folgelaktation analysiert. Kühe, die nicht innerhalb von sechs Tagen nach der Injektion gekalbt hatten, erhielten eine zweite Injektion mit reduzierter Dosierung (10 Mio. I.E.). Bei der Analyse der an Tag 1, 2, 3, 5, 7 und 10 nach der Kalbung genommenen Blutproben stellte sich heraus, dass die Tiere der Behandlungsgruppe an allen Tagen signifikant höhere Ca- und P_i-Konzentrationen und signifikant niedrigere Mg²⁺-Konzentrationen im Serum aufwiesen (Venjakob et al. 2022). Die Analyse der Gesundheitsdaten ergab, dass das Risiko für Retentio secundinarum und Metritis bei den mit Cholecalciferol behandelten Milchkühen erhöht war. Einmal mit Cholecalciferol behandelte Tiere hatten ein um 2,35-fach erhöhtes Risiko, zweimal behandelte ein um 1,89-fach erhöhtes Risiko fünf bis zehn Tage p.p. an Metritis zu erkranken (Venjakob et al. 2022).

Auch bei der Auswertung der Ergebnisse der ersten 10 Milchleistungsprüfungen nach der Kalbung zeigten sich negative Effekte in der Behandlungsgruppe. Milchkühe, die einmalig eine Cholecalciferol-Injektion erhielten, hatten durchschnittlich 3,7 kg weniger Milch in der ersten und 2,8 kg weniger Milch in der zweiten Milchleistungsprüfung im Vergleich zu den Kontrolltieren. In der Gruppe der zweifach mit Cholecalciferol behandelten Tiere wiesen diese Kühe im Vergleich mit der Kontrollgruppe durchschnittlich 3,8 kg weniger Milch in der ersten Milchleistungsprüfung auf (Venjakob et al. 2022). Da diese Effekte in der Literatur oder Praxis bisher nicht beschrieben wurden, scheint ein Betriebseffekt wahrscheinlich. Anhand des Versuchsdesigns konnte nicht überprüft werden, ob die Injektion bzw. der damit einhergehende Stress, die Dosierung des Cholecalciferols, oder eine mögliche Hypersensitivität gegenüber adjuvanter Substanzen in dem Medikament einen Einfluss auf die festgestellten negativen Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion haben könnten. Außerdem war in dieser Studie die Trächtigkeitsdauer der behandelten Milchkühe signifikant verkürzt. Eine mögliche Ursache dafür könnte eine Interaktion des Cholecalciferols mit dem Steroidmetabolismus sein, die zu einer verminderten Progesteron- und einer erhöhten Östradiol-Konzentration im Blut der Tiere und in der Folge zur Auslösung einer frühzeitigen Geburt geführt haben könnte (Venjakob et al. 2023). In der hier vorliegenden Studie wurden daher die Blutproben einer Teilstichprobe von 30 Tieren, die zwei Tage nach erfolgter Cholecalciferol-Injektion entnommen wurden, auf den Gehalt an Progesteron und Östradiol untersucht.

In dem aktuellen Versuchsdesign wurden einige Veränderungen vorgenommen, um diesen Fragestellungen zu begegnen. Um einen möglichen individuellen Betriebseffekt zu umgehen, wurde ein multizentrisches Versuchsdesign gewählt. Hierbei werden die zu untersuchenden Parameter auf verschiedenen Betrieben erhoben (Metzler und Krause 1997). In die vorliegende Studie wurden 446 tragende, trockenstehende Milchkühe auf elf Betrieben in Nordwest-Niedersachsen aufgenommen.

Der Betrieb, auf dem die Studie von Venjakob et al. (2022) durchgeführt wurde, setzte in der Trockensteherfütterung ein zweiphasiges System ein, in dem die Kühe in den letzten 21 Tagen vor der Kalbung eine Vorbereiterration mit negativer DCAB (- 31 mEq/kg TS) erhielten. Da, wie unter Punkt 2.3.3 beschreiben, auch die DCAB der Trockensteherration einen großen Einfluss auf die Ca-Homöostase hat, wurden für das vorliegende Versuchsdesign vorrangig Betriebe mit einer einphasigen Trockensteherfütterung ausgewählt. Auf diesen Betrieben sind keine negativen DCAB-Werte in der Fütterung der Trockensteher zu erwarten, da die Fütterung einer anionenreichen Ration über einen Zeitraum von mehr als 21 Tagen zu einer verminderten Futteraufnahme führen kann (Lopera et al. 2018). Im Verlauf des Durchführungszeitraumes wurden auf den einzelnen Betrieben Futterproben von der

Trockensteher- bzw. Vorbereiterrationen genommen und hinsichtlich ihrer Nährstoffgehalte und der DCAB untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 unter Punkt 4.1 dargestellt. Auf jeweils vier Betrieben wurde eine Ration mit niedrig positiver DCAB (0 - 100 mEq/kg TS) bzw. moderat positiver DCAB (100 - 200 mEq/kg TS) gefüttert. Auf drei weiteren Betrieben lag die DCAB der Trockensteherration über 200 (202, 258 und 280) mEq/kg TS. Lediglich bei einem Betrieb wurde eine stark negative DCAB von - 198 mEq/kg TS festgestellt. Dieser Betrieb hatte zu Beginn des Versuchszeitraums die Fütterung der Trockensteher auf ein zweiphasiges System mit Zufütterung von anionischen Salzen in der Vorbereiterfütterung umgestellt und wurde daraufhin von der Untersuchung ausgeschlossen.

In beiden Studien wurde das Medikament Ursovit D₃ des Serumwerks Bernburg verwendet. Eine Milchkuh der Rasse Holstein-Frisian mit einem Gewicht von ca. 600 kg müsste nach der Dosierungsempfehlung von 1 Mio. I.E. Cholecalciferol (1 ml Ursovit D₃) pro 50 kg Körpermasse eine Dosis von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol (12 ml Ursovit D₃) erhalten. Diese Dosierung führte im Fall der Studie von Venjakob et al. (2022) zu einer deutlichen, dosisabhängigen Steigerung des Serum-Ca-Spiegels. Tiere die zweimal mit Cholecalciferol behandelt wurden, hatten zu allen Zeitpunkten der Blutprobenentnahme p.p. signifikant höhere Ca-Konzentrationen als Tiere die einmal behandelt wurden und Tiere der Kontrollgruppe. Außerdem zeigte sich bei der Auswertung der 25OHD₃-Konzentrationen, dass Tiere, die einmalig mit Cholecalciferol behandelt wurden, auch an Tag 10 nach der Kalbung im Mittel noch fast vierfach höhere Werte als die Kontrolltiere hatten. Tiere, die zweimal mit Cholecalciferol behandelt wurden, hatten fast fünffach höhere Werte im Serum. Die Dosis von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol liegt, trotz dass die in der Studie beobachteten Effekte nicht den unter Punkt 2.3.4 beschriebenen Symptomen einer Cholecalciferolintoxikation entsprechen, insbesondere in Kombination mit der Nachdosierung von 10 Mio. I.E. nahe an der kritischen Dosis für mögliche toxische Effekte des Cholecalciferols. Da die hohe Dosierung dennoch als mögliche Ursache für die in der Studie beobachteten negativen Effekte in Frage kommt, wurde in der vorliegenden Studie die Dosis auf 10 Mio. I.E. reduziert und von einer Nachdosierung abgesehen.

Ein weiterer Faktor, der als mögliche Ursache für die adversen Effekte in der Studie von Venjakob et al. (2022) in Betracht zu ziehen ist, ist der Vorgang der Injektion des Cholecalciferols selbst, der kurz vor der Kalbung durch die Separation der Kuh und die Injektion selbst zu Stress bei den Tieren geführt haben könnte. Daher wurde in der hier beschriebenen Studie den Kühen der Kontrollgruppe zum Behandlungszeitpunkt ein Placebo in Form von 10 ml 0,9%iger Natriumchloridlösung intramuskulär injiziert. Die Tiere der beiden Gruppen wurden auf den jeweiligen Betrieben während der Behandlung und den gesamten Durchführungszeitraum über gleich behandelt. Es ist möglich, dass diese adversen Effekte

durch Reaktion auf einen anderen Bestandteil des verwendeten Medikaments bedingt sind. Um einen möglichen Effekt der adjuvanten Substanzen ausschließen zu können, hätte in der vorliegenden Untersuchung als Placebo ein dem Medikament gleiches Mittel inklusive der adjuvanten Stoffe ohne den Wirkstoff Cholecalciferol injiziert werden müssen. Vor Beginn des Untersuchungszeitraumes wurde geprüft, ob die Herstellung eines solchen Placebos möglich sei. Dies ließ sich jedoch aufgrund arzneimittelrechtlicher Vorschriften und produktionstechnischer Hindernisse nicht umsetzen.

Aus dem Versuchsdesign in die aktuelle Studie übernommen wurden der Zeitpunkt der Injektion fünf Tage vor der errechneten Kalbung (275. Tag der Trächtigkeit), der Ausschluss von Erstkalbinnen aufgrund des geringen Risikos für Hypocalcämie sowie die Untersuchung von Vaginalsekret fünf bis zehn Tage p.p. mittels Metricheck und die Entnahme von Blutproben an Tag 1, 2 und 3 nach der Kalbung, da zu diesen Zeitpunkten in der vorherigen Studie die größten Effekte auf die Serum-Konzentration von Ca, P_i und Mg²⁺ gezeigt werden konnten. In der aktuellen Studie lag der Injektionszeitpunkt des Cholecalciferols bzw. des Placebos bei durchschnittlich 7,1 Tagen vor der tatsächlichen Kalbung. Ursache ist einerseits die aufgrund des multizentrischen Ansatzes stärkere Variabilität der Trächtigkeitsdauer. Im Vergleich der einzelnen Betriebe lag die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer bei 280,1 bis 286,3 Tagen. Der Gesamtdurchschnittswert der Trächtigkeitsdauer über alle Betriebe lag mit knapp 283 Tagen drei Tage höher als erwartet. Nach ca. der Hälfte des Durchführungszeitraumes zeigte eine erste Analyse, dass die Trächtigkeitsdauer der Betriebe deutlich länger als die erwarteten 280 Tage war und durch die Injektion am 275. Tag der Gravidität das Intervall zwischen Behandlung und Trächtigkeit deutlich über den angestrebten fünf Tagen lag. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Zeitfenster, in dem die Injektion der Tiere stattfinden sollte, vom 275. Tag der Gravidität ± zwei Tage auf den 277. Tag der Gravidität ± zwei Tage angehoben. Ein anderer Grund für das verlängerte Intervall zwischen Behandlung und Kalbung ist, dass Tiere, die vor dem berechneten Behandlungszeitfenster gekalbt hatten, aufgrund der fehlenden Injektion nicht in die Studie mit aufgenommen werden konnten. Tiere, die aber deutlich nach dem errechneten Kalbetermin gekalbt hatten, blieben in der Statistik enthalten, weshalb sich der Mittelwert des Intervalls vergrößerte. Außerdem wurden die Tiere nur einmal behandelt. In der Studie von Venjakob et al. (2022) erhielten Tiere, die nicht innerhalb von 6 Tagen gekalbt hatten, eine zweite Cholecalciferolinjektion, welche dann als Grundlage zur Berechnung des Intervalls zwischen Behandlung und Kalbung genutzt wurde. So verringerte sich das Intervall bei Tieren, die deutlich nach dem errechneten Kalbetermin kalbten. Dies ist in der aktuellen Studie aufgrund der einmaligen Behandlung nicht der Fall. Der passende Injektionszeitpunkt fünf bis sechs Tage vor der Abkalbung ist aufgrund der großen tier- und betriebsindividuellen Schwankungen der Trächtigkeitsdauer ein grundlegendes Problem der Cholecalciferol-

Injektion als Hypocalcämieprophylaxe. Viele Autoren warnen in diesem Zusammenhang vor möglichen negativen Effekten auf die Ca-Homöostase, wenn das Intervall zwischen Injektion und Kalbung über den empfohlenen sechs Tagen liegt (Wenning und Grünberg 2015, Khol et al. 2020, Wilkens et al. 2020).

5.1 TMR-Analyse der Trockensteherrationen

Der Großteil der eingeschlossenen Betriebe (9 von 11) fütterte über die gesamte Trockenstehphase die gleiche Ration (einphasige Trockensteherfütterung). Auf den Betrieben 6 und 10 erhielten die Kühe ab 21 Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine angepasste Vorbereiterration (zweiphasige Trockensteherfütterung). Der Großteil der Betriebe fütterte eine totale Mischration, lediglich die Betriebe 4 und 8 verfütterten nur Grassilage und Heu an die Trockensteher. Die höchsten DCAB-Werte (> 200 mEq/kg TS) hatten die Rationen der Betriebe 4, 8 und 11. Für die DCAB der Rationen sind hinsichtlich einer Vorbeugung von Hypocalcämie v.a. die Gehalte an K^+ und Cl^- entscheidend (Goff 2008). Die höchsten K^+ -Gehalte (> 20 g/kg TS) fanden sich in den Rationen der Betriebe 3, 8 und 11. Auf den Betrieben 4 und 5 konnten K^+ -Gehalte von 19,7 bzw. 19,8 g/kg TS festgestellt werden. Die K^+ -Gehalte der übrigen Rationen waren deutlich niedriger (13,6 – 15,6 g/kg TS). Ein hoher K^+ -Gehalt in der Ration hat einen alkalisierenden Effekt auf den Organismus und steigert dadurch das Hypocalcämierisiko von Milchkühen nach der Kalbung (Goff und Horst 1997). Cl^- wirkt diesem Effekt durch seine ansäuernde Wirkung entgegen (Goff 2014). In den Rationen der Betriebe 6 und 7 lag der Cl^- -Gehalt unter 5,0 g/kg TS und der der Betriebe 8 und 11 über 10,0 g/kg TS. Die Cl^- -Gehalte der übrigen Rationen lag zwischen 5,0 und 10,0 g/kg TS. Die Empfehlung für den Cl^- -Gehalt einer Trockensteher- bzw. Vorbereiterration liegt bei 5 bis 14 g/kg TS (Goff 2014). Ein Cl^- -Gehalt von 5 g/kg TS sollte nur bei K^+ armen Rationen gefüttert werden, da sonst die Gefahr besteht, dass die DCAB der Rationen durch den K^+ -Überschuss stark positive Werte erreicht (Goff 2014). Bei zu hohen Cl^- -Werten (> 14 g/kg TS) besteht laut Goff (2014) die Gefahr, dass die Trockenmasseaufnahme der Tiere sinkt. Nur Betrieb 8 überschreitet mit 15,8 g/kg TS Cl^- diesen Wert. Niedrige K^+ -Gehalte in der Ration sind mit den gängigen Grundfuttermitteln meist nur schwer erreichbar (Goff 2014). Nach Kamphues (2014) liegt der K^+ -Gehalt einer durchschnittlichen Grassilage bei ca. 25,3 g/kg TS und der einer Maissilage bei 12,5 g/kg TS. Auf den eingeschlossenen Betrieben wird viel K^+ -reiche Grassilage in der Trockensteherfütterung eingesetzt, sodass die meisten Betriebe (9 von 11) die Empfehlung für den K^+ -Gehalt deutlich überschreiten. Zwei der drei Betriebe (8 und 11), bei denen der K^+ -Wert über 20,0 g/kg TS lag, hatten entsprechend hohe DCAB-Werte von über 200 mEq/kg TS. Auf dem Betrieb 11 wurde eine sehr grassilagereiche Ration gefüttert, sodass die DCAB trotz Fütterung einer TMR > 200 mEq/kg TS lag. Auf den Betrieben mit einer niedrigeren DCAB (1,

6, 9 und 10) wurde mehr K⁺-arme Maissilage in der Trockensteherfütterung eingesetzt, sodass die DCAB der Rationen 100 mEq/kg TS nicht überstieg.

Goff und Horst (1997) empfehlen für Trockensteherrationen eine Ca-Gehalt von 8,0 - 10,0 g/kg TS. Nur die Ration eines in die Studie aufgenommenen Betriebes (Betrieb 6) hatte mit 8,5 g/kg TS einen Ca-Wert, der innerhalb dieser Grenzen lag. Der Ca-Gehalt der übrigen Betriebe lag unter 8,0 g/kg TS (Betriebe 2, 3, 4, 7 und 9) bzw. unter 6 g/kg TS (Betriebe 1, 5, 8, 10 und 11). Ältere Arbeiten empfehlen eine Ca-arme Ration für Trockensteher zur Prophylaxe von klinischer Hypocalcämie (Boda und Cole 1954, Boda 1956, Beitz et al. 1974). Um den Ca-Stoffwechsel vor der Kalbung zu aktivieren, sollte jedoch die tägliche Aufnahme der trockenstehenden Kuh 30 g pro Tag nicht überschritten werden. Wie in Abschnitt 2.3.1 erläutert, führt eine deutlich den Bedarf einer trockenstehenden Milchkuh (21 g Ca/Tag (Martens und Deiner 2016)) übersteigende Ca-Aufnahme dazu, dass die Mechanismen der Ca-Homöostase zur Steigerung des Blut-Ca-Spiegels nicht aktiviert werden (Ramberg et al. 1984, Horst et al. 1994). Legt man eine TS-Aufnahme von 10 kg pro Tag zu Grunde, dürfte der Ca-Gehalt 3 g/kg TS nicht übersteigen. Dieser Wert ist mit den gängigen Grundfuttermitteln nur schwer zu erreichen. Laut Kamphues (2014) enthält angewelkte Grassilage ca. 7,6 g/kg TS Ca. Dies übersteigt den zur Hypocalcämieprophylaxe empfohlenen Wert deutlich.

5.2 Einfluss der Cholecalciferol-Injektion ante partum

5.2.1 Peripartale Serumdynamik von Calcium, Phosphor und Magnesium

Die mittlere Ca-Konzentration der Behandlungs- und der Kontrollgruppe lag in den ersten 48 Stunden nach der Kalbung bei < 2,0 mmol/l. Am dritten Tag nach der Abkalbung erreichte die mittlere Ca-Konzentration in beiden Gruppen ein ähnliches Niveau von ca. 2,09 mmol/l. Diese Beobachtung passt zu der unter Punkt 2.2.1 erläuterten „Latenzzeit“ der Mechanismen der Ca-Homöostase. Diese benötigen für eine effektive Anpassung der Ca-Konzentration im Blut an den nach der Kalbung sprunghaft angestiegenen Bedarf ca. 48 Stunden, sodass in dieser Zeitspanne nach der Kalbung ein hohes Risiko für Hypocalcämie besteht (Martín-Tereso und Martens 2014, Venjakob et al. 2017). Zudem sinkt die Futteraufnahme in den letzten beiden Tagen vor der Kalbung und steigt in den ersten drei Tagen danach wieder deutlich an, sodass um die Kalbung weniger Ca über das Futter aufgenommen wird (Neave et al. 2017).

Wie oben beschrieben führte eine Cholecalciferol-Injektion von 12 Mio. I.E. am 275. Tag der Gravidität in der Studie von Venjakob et al. (2022) zu signifikant höheren Serum-Ca-Konzentrationen an Tag 1, 2, 3, 5, 7 und 10 p.p. bei den behandelten pluriparen Milchkuhen. Kühe, die nicht innerhalb von sechs Tagen nach der ersten Injektion gekalbt hatten und dann eine weitere Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol erhielten, hatten zu allen Zeitpunkten

noch höhere Ca-Werte im Serum als die einmalig injizierten Tiere. Es zeigte sich also ein dosisabhängiger Effekt des Cholecalciferols auf den Serum-Ca-Spiegel. Die behandelten Kühe erhielten über zwei bis drei Wochen vor der Kalbung eine anionenreiche Ration mit einer DCAB von -31 mEq/kg TS.

In der vorliegenden Studie hatte eine Stichprobe von 95 Tieren, die einmalig sieben Tage vor der Kalbung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol intramuskulär behandelt wurden, eine tendenziell höhere Ca-Konzentration nach der Kalbung ($P = 0,08$). Unter Betrachtung der Interaktion aus Zeitpunkt der Beprobung und der Behandlung konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zu den einzelnen Beprobungstagen festgestellt werden, auch wenn die durchschnittliche Ca-Konzentration einen bzw. zwei Tage nach der Kalbung in der Behandlungsgruppe numerisch höher lag ($P = 0,567$).

In dem Betrieb, auf dem die Studie von Venjakob et al. (2022) durchgeführt wurde, wurde ein zweiphasiges Trockensteherfütterungskonzept umgesetzt und den Tieren ab 21 Tagen vor der voraussichtlichen Kalbung eine Vorbereiterration mit negativer DCAB (- 31 mEq/kg TS) gefüttert. Die durch die negative DCAB bei den Tieren vermutlich induzierte Azidose könnte zu einer verbesserten Funktion des PTH-Rezeptors an den Zielgeweben im Knochen und in der Niere geführt haben (Goff 2008). In der Folge würde die Ca- und P-Freisetzung aus den Knochen gesteigert und in der Niere die 1α -Hydroxylase aktiviert werden (Goff et al. 1991b). Durch die Injektion des Cholecalciferols sieben Tage vor der Kalbung wird die Substratmenge der 25-Hydroxylase gesteigert und das Cholecalciferol in der Leber v.a. substratabhängig zu 25OHD_3 umgesetzt (Jones 2008). Dieses wird wiederum in der Niere durch die 1α -Hydroxylase zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ konvertiert (Fraser und Kodicek 1973). Durch die gesteigerte Konzentration an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird der aktive Ca-Transport im Darm aktiviert (Bronner et al. 1986, Goff 2014). So könnten durch die Kombination der Fütterung einer ansäuernden Ration und der Verabreichung von Cholecalciferol die Mechanismen der Ca-Homöostase synergistisch aktiviert worden sein, sodass die Tiere bereits zum kritischen Zeitpunkt bis 48 Stunden nach der Kalbung ausreichend Ca aus den Knochen freisetzen bzw. aus dem Darm resorbieren konnten. Diese Hypothese ist ein Erklärungsansatz für den starken Einfluss der Injektion von Cholecalciferol auf die Serumdynamik von Ca in der Untersuchung von Venjakob et al. (2022). In der vorliegenden Studie wurden nur Betriebe, die eine Ration mit positiver DCAB in der Trockensteher- bzw. Vorbereiterfütterung einsetzten, ausgewählt, um einen möglichen Einfluss einer negativen DCAB auf die in 2022 festgestellten Auswirkungen der Injektion von Cholecalciferol auf die Milchproduktion und den Reproduktionstrakt der behandelten Tiere auszuschließen. Durch die positive DCAB in der Trockensteherfütterung würde dann jedoch der oben erläuterten Hypothese folgend keine frühzeitige Sensibilisierung der PTH-Rezeptoren in Knochen und Niere erfolgen und die 1α -

Hydroxylase zeitverzögert aktiviert werden. Eine Injektion von Cholecalciferol würde dann vermutlich eine Umsetzung zu 25OHD_3 (substratabhängige Synthese (Jones 2008)) zur Folge haben, jedoch den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel nicht ausreichend steigern, um den aktiven Ca-Transport im Darm zu induzieren. Dies könnte eine Ursache für die geringere Wirkung des Cholecalciferols auf den Ca-Spiegel in der aktuellen Untersuchung sein.

25OHD_3 kann jedoch in hohen Dosen auch an den VDR binden und die Transkription und Translation aktivieren, sodass mehr Ca-Kanäle in den Enterozyten synthetisiert und in die luminaire und basolaterale Membran eingebaut werden (Brumbaugh und Haussler 1973, DeLuca et al. 2011). In einer weiteren Studie, in der die Auswirkungen einer Injektion von 12 bzw. 6 Mio. I.E. Cholecalciferol ca. fünf Tage vor der erwarteten Kalbung auf den Serum-Ca-Spiegel um die Geburt untersucht wurden, war die Konzentration von Ca in den ersten 72 Stunden p.p. in der mit 12 Mio. I.E. behandelten Gruppe signifikant höher als bei der Kontrollgruppe (Venjakob et al. 2023). Die Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hingegen war an Tag 2 und 3 nach der Kalbung in der Behandlungsgruppe numerisch niedriger und die 25OHD_3 -Konzentration signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe. Es liegt daher nahe, dass in dieser Studie die Wirkung der Cholecalciferol-Injektion auf den Serum-Ca-Spiegel durch 25OHD_3 und nicht durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vermittelt wurde. In der aktuellen Studie hatten die Milchkühe der Behandlungsgruppe ähnlich hohe 25OHD_3 -Konzentrationen in den ersten drei Tagen nach der Kalbung im Blut wie die mit 12 I.E. Cholecalciferol behandelten Milchkühe der 2023 veröffentlichten Studie. Dennoch konnte in der vorliegenden Untersuchung kein signifikanter Effekt auf die Ca-Konzentration p.p. beobachtet werden.

Der Stichprobenumfang der Blutprobenentnahmen in der vorliegenden Studie wurde anhand des in der Studie von Venjakob et al. (2022) beobachteten dosisabhängigen Effekts des Cholecalciferol berechnet. Anhand der oben beschriebenen Hypothese lässt sich vermuten, dass in dieser Studie die negative DCAB der Vorbereiterraion zu einem stärkeren Effekt der Cholecalciferol-Injektion geführt haben könnte. Dieser resultiert in einem größeren Unterschied in den Serum-Konzentrationen von Ca, Mg^{2+} und P_i zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe. Möglicherweise hat dies in der Berechnung der Stichprobengröße in der aktuellen Studie zu einer Unterschätzung der benötigten Blutprobenanzahl bei Einbeziehung von ausschließlich Betrieben mit einer positiven DCAB geführt, weshalb nur ein numerischer Effekt der Behandlung auf die Ca-Konzentration zu beobachten war.

Eine andere Ursache dafür, dass der Effekt der Cholecalciferol-Injektion in der vorliegenden Studie nicht so ausgeprägt war wie in der Untersuchung von Venjakob et al. (2022), könnte die eingesetzte geringere Dosis sein. In einer Studie von Sadri et al. (2021) erhielten zwölf Holstein-Frisian-Milchkühe am 271. Tag der Trächtigkeit eine intramuskuläre

Injektion von 8 Mio I.E. Cholecalciferol sowie ab 21 Tage vor dem errechneten Kalbedatum eine anionenreiche Diät mit einer DCAB von -80 mEq/kg TS. Der Kontrollgruppe wurde nur die anionenreiche Diät mit negativer DCAB gefüttert. Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Serum-Konzentration von Ca, Mg²⁺ und P_i zwischen den beiden Gruppen. In der Studie von Venjakob et al. (2022) konnte bei Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol und Nachdosierung mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol nach sieben Tagen bei nicht erfolgter Kalbung ein deutlicher, dosisabhängiger Effekt des Cholecalciferols auf die Konzentrationen von Ca, P_i und Mg²⁺ p.p. beobachtet werden. In der vorliegenden Studie wurde aufgrund der negativen Auswirkungen des Cholecalciferols in der Studie von Venjakob et al. (2022) die Dosierung auf 10 Mio. I.E. reduziert und auf eine Nachdosierung verzichtet. Diese Dosierung von 10 Mio. I.E. intramuskulär einmalig drei bis sieben Tage vor der erwarteten Kalbung ist international anerkannt (Constable et al. 2017, Hodnik et al. 2020, Weber et al. 2021). Die geringere Dosis und der Verzicht auf eine Nachdosierung könnten dennoch Ursache für den geringen Effekt des Cholecalciferols auf die Serum-Konzentration von Ca in der Behandlungsgruppe gewesen sein. In Anbetracht der hohen 25OHD₃-Konzentration der behandelten Kühe in der vorliegenden Untersuchung, die mit der 25OHD₃-Konzentration der Behandlungsgruppe aus der Studie von Venjakob et al. (2023) vergleichbar ist, ist dies jedoch eher unwahrscheinlich.

Zudem wurden die Tiere auf vier verschiedenen Betrieben mit unterschiedlichen DCAB-Niveaus beprobt. Dadurch wirken deutlich mehr Einflussgrößen auf den Serum-Ca-Spiegel ein als bei einer unizentrischen Studie auf nur einem Betrieb.

In einer großen Studie mit mehreren Veröffentlichungen aus dem Jahr 2018 wurde der Einfluss der DCAB und verschiedener Vitamin D₃-Metabolite (Cholecalciferol vs. 25OHD₃) hinsichtlich verschiedener Zielvariablen untersucht (Martinez et al. 2018a, 2018b, Rodney et al. 2018). Die dieser Studie zu Grunde liegende Hypothese war, dass eine Ration mit negativer DCAB in der Vorbereiterfütterung positive Effekte auf die Ca-Dynamik um die Kalbung hat und so die Gesundheit der Tiere und ihre Leistung (Milchleistung und Reproduktionsparameter) in der Folgelaktation verbessert. Durch Zugabe von 25OHD₃ bzw. Cholecalciferol sollte dieser Effekt potenziert werden können. Die in die Studie aufgenommenen Milchkühe wurden in vier Gruppen aufgeteilt. Zwei Gruppen erhielten ab dem 252. Tag der Trächtigkeit eine Ration mit negativer DCAB (-130 mEq/kg TS). Die übrigen beiden Gruppen erhielten eine Ration mit positiver DCAB (+130 mEq/kgTS). Die zwei Gruppen mit den verschiedenen DCAB-Niveaus wurden weiterhin in zwei Untergruppen aufgeteilt. Jeweils eine Kohorte aus jeder DCAB-Gruppe erhielt zusätzlich täglich 3 mg/11kg TS Cholecalciferol oder 3 mg/11kg 25OHD₃ oral (Martinez et al. 2018a). Die Tiere, die mit positiver DCAB gefüttert wurden, hatten ein deutlich höheres Risiko für eine subklinische Hypocalcämie innerhalb der ersten 48 bis 72 Stunden nach der Kalbung (Martinez et al. 2018a). In der Gruppe der mit Cholecalciferol

supplementierten Tiere waren unabhängig von der gefütterten DCAB die Inzidenzen von Retentio secundinarum und Metritis sowie den Anteil von Tieren mit mehreren Erkrankungen in der Folgelaktation höher als in den Gruppen, die 25OHD₃ erhielten (Martinez et al. 2018a). In einer Studie von Taylor et al. (2008) konnte bei Gabe eines oralen Bolus mit 15 mg 25OHD₃ oder Cholecalciferol 6 Tage vor dem errechneten Kalbedatum kein Effekt auf den Ca-, P_i- und Mg²⁺-Gehalt im Serum fünf Tage vor bis 85 Tage nach der Kalbung nachgewiesen werden. Wilkens et al. (2012) verglichen die Fütterung einer negativen (-168 mEq/kg TS) bzw. positiven DCAB (144 mEq/kg TS) ab dem 270. Tag der Gravidität jeweils mit Zusatz von 3 mg (20.000 I.E.) 25OHD₃ miteinander. In dieser Studie führte die orale Gabe von 25OHD₃ in Kombination mit einer positiven DCAB in der Ration im Vergleich mit den anderen Fütterungsgruppen zu niedrigeren Ca-Werten innerhalb der ersten 12 Stunden p.p.. Im Kontext dieser Studien deutet auch die vorliegende Studie darauf hin, dass die Kombination einer Cholecalciferolgabe vor der Kalbung mit der Fütterung einer Vorbereiterration mit positiver DCAB im Vergleich mit Supplementation von Cholecalciferolmetaboliten und Rationen mit negativer DCAB weniger zur Hypocalcämieprophylaxe um die Kalbung geeignet ist.

Signifikant negativ mit dem Serum-Ca-Spiegel assoziiert war die Laktationsnummer der Tiere. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien überein (Curtis et al. 1983, Reinhardt et al. 2011, Venjakob et al. 2017). Mögliche Ursachen dafür wurden bereits unter Punkt 2.2.2 diskutiert. In einer Studie von Weber et al. (2021) erhielten 15 trockenstehende Milchkühe in der 5. Laktation oder darüber, die mit einer Vorbereiterration mit einer DCAB von ca. 0 mEq/kg TS gefüttert wurden, sieben Tage vor der errechneten Kalbung eine Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol. Nach der Kalbung erhielten alle Tiere 30 min p.p. oral einen Ca-Bolus und über 24 Stunden hinweg wurde alle zwei Stunden eine Blutprobe entnommen und auf den Ca-Gehalt untersucht. Die behandelten Milchkühe hatten über die gesamten 24 Stunden hinweg durchschnittlich Ca-Werte > 2 mmol/l und damit signifikant höhere Ca-Werte als die Kontrolltiere. Diese Werte zeigen, dass eine Cholecalciferol-Injektion sieben Tage vor der errechneten Kalbung einen deutlichen Effekt auf den Ca-Gehalt im Serum bei Milchkühen in höheren Laktationen, die dadurch stärker für Hypocalcämie prädisponiert sind, hat. In Kombination mit der Fütterung einer anionenreichen Ration hatte die Cholecalciferol-Injektion vor der Kalbung einen ähnlichen, positiven Effekt auf den Serum-Ca-Gehalt nach der Kalbung (Venjakob et al. 2022). Bei Fütterung einer Ration mit positiver DCAB konnte in der vorliegenden Untersuchung nur ein moderater Effekt auf die Serum-Ca-Konzentration in den ersten drei Tagen p.p. festgestellt werden, da möglicherweise die Stichprobengröße zu gering war. Die Ergebnisse der o.g. Studie von Weber et al. (2021) geben jedoch einen Hinweis darauf, dass vor allem Milchkühe in höheren Laktationen auch bei

Fütterung einer nicht negativen DCAB von dem stabilisierenden Effekt der Cholecalciferol-Injektion auf die Serum-Ca-Konzentration p.p. profitieren könnten.

Bei der Analyse der P_i -Konzentrationen im Serum konnten an Tag 1, 2 und 3 p.p. bei den Tieren der Behandlungsgruppe signifikant höhere P_i -Werte nachgewiesen werden. Auch in der Studie von Venjakob et al. (2022) hatten die Tiere der Behandlungsgruppen zu allen Zeitpunkten signifikant höhere P_i -Werte im Blut. Die Serum- P_i -Dynamik ähnelte dem Verlauf der Serum-Ca-Konzentration. Dies ist auf die eng aneinander gekoppelten Regulationsmechanismen der Ca- und P_i -Homöostase zurückzuführen. Auch hier war die Steigerung des P_i -Spiegels im Serum der Behandlungsgruppe deutlich geringer als in der Vergleichsstudie von Venjakob et al. (2022). Hierfür könnten die gleichen Ursachen wie oben beschrieben verantwortlich sein. Die P_i -Konzentration war ebenso wie die Ca-Konzentration signifikant negativ mit der Laktationsnummer assoziiert. Auch hier kommen ähnliche Erklärungen wie in Bezug auf Ca-Konzentration in Betracht.

Die Serum- Mg^{2+} -Konzentration war in der Behandlungsgruppe zu allen Zeitpunkten nach der Kalbung signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Dies entspricht den Ergebnissen der Studie von Venjakob et al. (2022). Bei hypocalcämischen Milchkühen gibt es nachweislich eine negative Assoziation zwischen den Ca- und Mg^{2+} -Werten im Blut (Venjakob et al. 2017). Mg^{2+} ist für die Funktion des PTH-Rezeptors und damit für die Ca-Homöostase entscheidend (Goff 2008). Parathormon steigert die Reabsorption von Mg^{2+} aus dem Urin, sodass die Mg^{2+} -Konzentration im Blut steigt (Goff 2008). Die Autoren schlossen aus den Ergebnissen der Studie von Venjakob et al. (2022), dass die Behandlung mit Cholecalciferol in diesem Fall zu deutlich höheren Serum-Ca-Werten führte, wodurch die PTH-Konzentration möglicherweise gesunken ist. Dies könnte zu einer geringeren Mg^{2+} -Reabsorption aus dem Urin und folglich zu den geringeren Serum- Mg^{2+} -Konzentrationen geführt haben (Venjakob et al. 2022). Diese Hypothese kann durch die aktuellen Ergebnisse jedoch nicht gestützt werden. In der vorliegenden Untersuchung waren die Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die Ca- und P_i -Werte in der Behandlungsgruppe deutlich geringer ausgeprägt und auch der Effekt auf die Serum- Mg^{2+} -Konzentration ist schwächer. Ursache dafür könnte auch hier die Stichprobengröße und die positive DCAB in der Ration der Trockensteher sein.

5.2.2 Totgeburtenrate, Kalbeverlauf, Inzidenz klinischer Hypocalcämie

Die Auswertung der Totgeburtenrate und des Kalbeverlaufs ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe. Der Anteil der Tiere, bei denen in den Geburtsverlauf eingegriffen werden musste, war in beiden Gruppen ähnlich (Behandlungsgruppe: 15,7%; Kontrollgruppe: 16,2%). Der numerische Anteil der Totgeburten betrug in der Behandlungsgruppe 9 von 230 Tieren (3,9%) und in der Kontrollgruppe 3 von

216 Tieren (1,4%). Es gibt somit Hinweise für ein höheres Risiko für Totgeburten in der Behandlungsgruppe ($P = 0,10$). Bei diesem Ergebnis könnte es sich um einen Zufallsbefund handeln, es passt jedoch auch zu den Ergebnissen aus den zurückliegenden Arbeiten aus der Arbeitsgruppe um Venjakob et al., 2022 und 2023. In diesen Studien traten bei höheren Dosierungen von Cholecalciferol eine verkürzte Trächtigkeitsdauer und höhere Inzidenzen von Retentio secundinarum und Metritis in der Behandlungsgruppe auf. Auch in der Cross-over-Studie von Martinez et al. (2018a), in der die untersuchten Milchkühe a.p. entweder eine Ration mit positiver oder negativer DCAB und zusätzlich Cholecalciferol bzw. 25OHD₃ erhielten, waren in den Gruppen der mit Cholecalciferol gefütterten Kühe unabhängig von der gefütterten DCAB-Ration die Inzidenzen von Retentio secundinarum und Metritis höher als in den Gruppen, denen 25OHD₃ gefüttert wurde.

Es gab keinen Unterschied in der Inzidenz klinischer Hypocalcämie zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe ($P = 0,33$). Dieses Ergebnis spiegelt die geringen Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die Serum-Ca-Konzentration der Behandlungsgruppe wider. Aufgrund des wenig ausgeprägten Effektes waren auch keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen in der Inzidenz klinischer Hypocalcämie zu erwarten. Der Anteil von Tieren mit klinischer Hypocalcämie betrug in der Behandlungsgruppe 12,7% und in der Kontrollgruppe 9,7%. In beiden Gruppen übersteigt der Anteil der Tiere mit klinischer Hypocalcämie die Empfehlung von $< 3\%$ deutlich (Staufenbiel 2023). Auf den teilnehmenden Betrieben wurden in der Trockenstehperiode vor allem Grassilage-betonte Rationen mit deutlich positiver DCAB gefüttert. Eine kaliumreiche Ernährung der Tiere bedingt meist eine metabolische Alkalose, die der Freisetzung von Ca nach der Kalbung entgegenwirkt (Constable 2014). Dies ist vermutlich der Grund für den hohen Anteil von Tieren mit klinischer Hypocalcämie in der vorliegenden Studie.

Ursache für den eingeschränkten Zeitrahmen für eine wirksame Cholecalciferol-Injektion ist ein in mehreren Studien aufgetretener „Rebound-Effekt“ des Serum-Ca-Spiegels. Bereits Littledike und Goff (1980) beobachteten bei intramuskulärer Injektion geringer Dosierungen (500.000 - 1 Mio. I.E.) Cholecalciferol eine höhere Inzidenz von Hypocalcämie als in der Kontrollgruppe. Die Autoren schlussfolgerten, dass die durch die Zufuhr von exogenem Cholecalciferol gestiegenen Konzentrationen von 25OHD₃ und 1,25(OH)₂D₃ zu einem gesenkten PTH-Spiegel im Blut führten und so die endogene 1,25(OH)₂D₃-Produktion durch die 1 α -Hydroxylase in der Niere gehemmt wurde. Nach Ausscheidung des exogenen Cholecalciferols und dessen Metaboliten konnte die Ca-Homöostase aufgrund des fehlenden endogenen 1,25(OH)₂D₃ nicht mehr aufrechterhalten werden und die Tiere wurden hypocalcämisch. Auch höhere Dosen exogenen Cholecalciferols hemmen aufgrund dieses negativen Feedback-Mechanismus die PTH-Sekretion und damit indirekt auch die Produktion

des endogenen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Littledike und Goff 1980, Hodnik et al. 2020). Nach Abbau des exogenen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ muss die endogene Produktion zunächst wieder verstärkt werden. Es entsteht eine Lücke, in der nicht genügend $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vorhanden ist, die zu Hypocalcämie prädisponiert (Littledike und Goff 1980, Wenning und Grünberg 2015, Hodnik et al. 2020). Auch in anderen Studien hatten Tiere, die vor der Kalbung oral oder parenteral Cholecalciferol erhielten, um die Kalbung höhere Ca-Werte im Serum und eine geringere Hypocalcämieinzidenz als die Kontrollgruppe, in den darauffolgenden Tagen jedoch niedrigere Ca-Konzentrationen und damit einhergehend ein höheres Risiko für Hypocalcämie (Hove und Kristiansen 1984, Vieira-Neto et al. 2017).

In älteren Studien aus den 1970er Jahren konnte gezeigt werden, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bei intramuskulärer Injektion vor der Kalbung die Inzidenz von klinischer Hypocalcämie in der Behandlungsgruppe deutlich senken kann (Julien et al. 1977, Gast et al. 1979). Bei Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol sieben Tage vor der errechneten Kalbung sank die Inzidenz klinischer Hypocalcämie bei Tieren, die bereits in der Vorlaktation eine klinische Hypocalcämie entwickelt hatten, auf 37,8% im Vergleich zu 60% in der Kontrollgruppe (Julien et al. 1977). Bei Gabe von 4 mg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ab fünf Tagen vor der erwarteten Kalbung und Reinjektion alle fünf Tage bei nicht erfolgter Abkalbung zeigten zwei von sechs Tieren in der Kontrollgruppe Anzeichen einer klinischen Hypocalcämie, in der Behandlungsgruppe traten keine Symptome auf (Gast et al. 1979). Diese deutlichen Effekte sind vermutlich v.a. den hohen Inzidenzen von klinischer Hypocalcämie in dieser Zeit geschuldet. Durch die Optimierung der Fütterung mittels anderer Strategien zur Hypocalcämieprophylaxe ist die Inzidenz von klinischer Hypocalcämie weitgehend gesenkt worden. In einer aktuelleren Studie wurde der Einfluss einer subkutanen Injektion von 300 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ innerhalb der ersten sechs Stunden nach der Kalbung u.a. auf die Konzentration von Ca untersucht (Vieira-Neto et al. 2017). Die Plasma-Konzentration von ionisiertem Ca der mit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ behandelten Tiere war innerhalb der ersten drei Tage nach der Kalbung im Vergleich mit der Kontrollgruppe erhöht.

5.2.3 Retentio secundinarum und Metritis fünf bis zehn Tage post partum

Um die Gebärmuttergesundheit nach der Abkalbung zu untersuchen, wurde die Inzidenz von Retentio secundinarum erfasst und mittels Metrichheck fünf bis zehn Tage nach der Kalbung der Vaginalschleim nach Urton et al. (2005) beurteilt, um Tiere mit Metritis zu detektieren. In der Behandlungsgruppe war die Inzidenz von Retentio secundinarum signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($P = 0,02$). Die Metritis Scores waren in beiden Gruppen sehr ähnlich verteilt und wurde nicht durch die Behandlung mit Cholecalciferol beeinflusst ($P = 0,67$). Der Anteil der Tiere mit Score 4, der nach der Definition von Urton et

al. (2005) Tiere mit Metritis identifiziert, war in der Behandlungsgruppe (2,9%) jedoch prozentual höher als in der Kontrollgruppe (1,7%).

Hypocalcämie ist ein wichtiger Prädispositionsfaktor für Folgeerkrankungen wie etwa Störungen des Reproduktionstraktes (Rodríguez et al. 2017, Rodney et al. 2018). Die Kontraktilität des Myometriums der Gebärmutter ist abhängig von Ca (Al-Eknaah und Noakes 1989, Wray et al. 2003). Bei Hypocalcämie kann dies zu einem höheren Risiko für Dystokien und Uterusprolaps führen (Correa et al. 1992, Martinez et al. 2012, Caixeta et al. 2017, Wilhelm et al. 2017). Auch für die Aktivierung und Migration von neutrophilen Granulozyten wird Ca benötigt (Clemens und Lowell 2015). In einer anderen Studie wurde das Risiko, eine puerperale Metritis zu entwickeln, bei normo- und hypocalcämischen (< 8,59 mg/dL) Milchkühen mit initial hohem oder niedrigem Risiko für das Auftreten von Metritis verglichen (Martinez et al. 2012). Bei den hypocalcämischen Tieren zeigte sich eine reduzierte Immunfunktion in Form einer verringerten Konzentration an Neutrophilen im Blut und einer geringeren Anzahl an Neutrophilen, die phagozytierten oder reaktive Sauerstoffverbindungen freisetzen (Martinez et al. 2012). Tiere, bei denen vor Aufnahme in die Studie bereits einmal eine Dystokie, Totgeburt, Zwillinge, Retentio secundinarum oder eine Kombination dieser Faktoren aufgetreten war, wurden als Tiere mit einem hohen Risiko für eine puerperale Metritis eingestuft. In beiden Kohorten (hohes bzw. niedriges initiales Risiko für Metritis) traten bei den hypocalcämischen Tieren deutlich höhere Inzidenzen von puerperaler Metritis auf als bei den normocalcämischen Tieren (Martinez et al. 2012). In einer anderen Studie, in der untersucht wurde, inwiefern die Serum-Ca-Konzentration an Tag 0, 1 und 3 p.p. mit dem Risiko für eine akute puerperale Metritis assoziiert ist, hatten pluripare Milchkühe mit einer Serum-Konzentration von 2,5 mmol/l ein um 66% geringeres Risiko, eine akute puerperale Metritis zu entwickeln als hypocalcämische pluripare Tiere mit einem Serum-Ca-Spiegel von 1,5 mmol/l (Venjakob et al. 2019).

In den Metaanalysen von Lean et al. (2019) und Santos et al. (2019) sank bei Fütterung einer negativen DCAB zur Hypocalcämieprophylaxe neben dem Risiko für klinische Hypocalcämie auch das Risiko für Metritis und Retentio secundinarum um 56% bzw. 41%. Da in der hier vorliegenden Studie keine deutlichen Effekte auf die Serum-Ca-Konzentration und die Inzidenz klinischer Hypocalcämie gefunden werden konnten, war auch eine Beeinflussung der Trächtigkeitsdauer und des Reproduktionstraktes p.p. durch die Cholecalciferol-Injektion unwahrscheinlich. Tatsächlich konnten keine Auswirkungen der Behandlung auf die Inzidenz von Metritis sowie die Gützeit und Milchleistung in der Folgelaktation nachgewiesen werden. Es zeigte sich in der Behandlungsgruppe lediglich eine signifikant höhere Inzidenz von Retentio secundinarum. Da es außerdem auch eine Tendenz zu einer signifikant höheren Totgeburtenrate ($P = 0,100$) in der Behandlungsgruppe gab, liegt es nahe, dass dies eine

Ursache für die höhere Inzidenz von Retentio secundinarum bei den behandelten Tieren sein könnte.

Venjakob et al. (2022) konnten in ihrer ähnlich aufgebauten Studie trotz positiver Effekte auf die Serum-Ca-Konzentration durch die Cholecalciferol-Injektion negative Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt nachweisen. Bei den einmalig mit Cholecalciferol behandelten Tieren war das Risiko für Metritis 2,35-fach, bei Tieren, die zwei Cholecalciferolinjektionen erhielten, 1,89-fach höher als in der Kontrollgruppe (Venjakob et al. 2022). Das Risiko für eine Retentio secundinarum war in der Gruppe der einmalig behandelten Tiere 4,15-fach höher als in der Kontrollgruppe, während die zweifach behandelten Kühe im Vergleich zu der Kontrollgruppe kein erhöhtes Risiko für Retentio secundinarum hatten (Venjakob et al. 2022). Zudem war der Haptoglobinwert - ein unspezifischer Entzündungsparameter - bei Tieren, die einmal behandelt wurden, an Tag fünf p.p. signifikant höher als in der Kontrollgruppe und die Trächtigkeitsdauer war in der Gruppe der einmalig mit Cholecalciferol behandelten Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe verkürzt (einmalig behandelt: 278,4; zweimal behandelt: 284,7; Kontrolle 281,3 Tage) (Venjakob et al. 2022). Aufgrund der Reinjektion bei nicht erfolgter Kalbung innerhalb von 6 Tagen sind in dieser Studie Trächtigkeitsdauer und Behandlungszeitpunkt nicht unabhängig voneinander. In einer weiteren Untersuchung der gleichen Arbeitsgruppe wurden eine einmalige Injektion von 12 Mio. I.E. und 6 Mio. I.E. Cholecalciferol am 275. Tag der Trächtigkeit auf dem gleichen Betrieb miteinander verglichen (Venjakob et al. 2023). Auch hier konnte in der mit 12 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelten Gruppe eine verkürzte Trächtigkeitsdauer im Vergleich mit der Kontrollgruppe und der mit 6 Mio. I.E. behandelten Gruppe beobachtet werden (12 Mio. I.E. Cholecalciferol: 278,5; 6 Mio. I.E. Cholecalciferol: 280,9; Kontrolle: 281,4 Tage). Auch in dieser Studie konnte im Vergleich mit den anderen Gruppen in der mit 12 Mio. I.E. behandelten Gruppe ein erhöhtes Risiko für Retentio secundinarum und Metritis sowie eine geringere Milchmenge in den ersten fünf Milchleistungsprüfungen nachgewiesen werden. Da eine verkürzte Trächtigkeitsdauer mit einem erhöhten Risiko für Retentio secundinarum und Metritis assoziiert ist, ist es wahrscheinlich, dass diese der Grund für das erhöhte Risiko für Retentio secundinarum und Metritis in dieser Studie ist (Vieira-Neto et al. 2017).

Die Autoren vermuten weiterhin, dass die Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt auch durch eine mögliche lokale Hypersensitivitätsreaktion der behandelten Tiere auf das Medikament bedingt sein könnte (Venjakob et al. 2022). Dadurch ließe sich jedoch nicht erklären, warum der Haptoglobinwert erst an Tag fünf erhöht war und in der zweifach behandelten Gruppe unverändert blieb. Als Ursache für die beobachteten negativen Effekte auf den Reproduktionstrakt kommen auch toxische Effekte der Cholecalciferol-Metabolite in Betracht. In einer Studie von Levene und Lawson (1977) konnten bei hohen Konzentrationen

von 25OHD₃ in vitro toxische Effekte auf die Adhäsionsfähigkeit von aus einer Schweineaorta extrahierten Endothelzellen und Mäuse-Fibroblasten beobachtet werden. In Studien zur Toxizität von Cholecalciferol beim Rind war die toxische Wirkung jedoch vor allem durch die von hohen Cholecalciferol-Konzentrationen hervorgerufene Hypercalcämie bedingt (Capen et al. 1966). Eine Hypercalcämie konnte in der Studie von Venjakob et al. (2022) jedoch nicht beobachtet werden.

Eine Ursache für die verkürzte Trächtigkeitsdauer könnte laut den Autoren der Studie von Venjakob et al. (2023) eine mögliche Interaktion des Steroid- und Cholecalciferolmetabolismus sein. Die Autoren nahmen an, dass es in Folge der Cholecalciferol-Injektion zu einer Aktivierung der Östradiol-Synthese und des Progesteron-Abbaus sowie zu einer Hemmung der Progesteron-Synthese gekommen sein könnte. Der daraus resultierende Progesteronabfall könnte zu einem vorzeitigen Beginn der Kalbung geführt haben (Venjakob et al. 2023). Aus diesem Grund wurde in der aktuellen Untersuchung ein Teil der gewonnenen Blutproben auf den Gehalt an Progesteron und Östradiol untersucht.

5.2.4 Progesteron- und Östradiol-Werte vor der Kalbung

Die Auswertung der Untersuchung der Blutproben einer Teilstichprobe von 38 Tieren, die zwei Tage nach der Behandlung mit Cholecalciferol bzw. Natriumchlorid entnommen wurden, ergab keinen Effekt der Behandlung auf die Progesteron- bzw. Östradiol-Konzentration im Serum. Grund für die Analyse der Blutproben auf ihre Östradiol- und Progesteron-Konzentrationen ist die oben beschriebene Hypothese der Autoren von Venjakob et al. (2023), dass das Cholecalciferol oder dessen Metabolite durch Interaktion mit dem Steroidhormonmetabolismus zu einer verkürzten Trächtigkeitsdauer und in der Folge zu einem erhöhten Risiko für Retentio secundinarum und Metritis geführt haben könnten. Die Autoren spekulierten, dass die Injektion von 12 Mio. I.E. Cholecalciferol am 275. Tag der Trächtigkeit zu einer gesteigerten RNA-Expression des Enzyms Cytochrom P450 Subtyp 17A1 (CYP17A1) und einer verminderten Expression des Enzyms Cytochrom P450 Subtyp 11A1 (CYP11A1) geführt haben könnte. CYP17A1 metabolisiert in der Placenta Progesteron zu Östradiol und CYP11A1 produziert Pregnenolon, ein Vorgängermolekül von Progesteron (Kindahl et al. 2004, Schuler et al. 2018). In Folge der Aktivierung von CYP17A1 und Hemmung von CYP11A1 könnte es zu einem Anstieg der Östradiol- und einem Abfall der Progesteron-Konzentration gekommen sein, durch den die Kalbung vorzeitig initiiert worden sein könnte (Venjakob et al. 2023). In der vorliegenden an die Studien von Venjakob et al., 2022 und 2023 angelehnten Studie konnte kein Effekt der Cholecalciferol-Injektion auf die Trächtigkeitsdauer nachgewiesen werden. Auch die Konzentration von Östradiol und Progesteron im Serum der behandelten Tiere wurde nicht durch die Behandlung beeinflusst. Ursächlich dafür könnte die eingesetzte geringere Dosis von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol sein, die möglicherweise nicht zu

einer ausreichenden Aktivierung des Steroidstoffwechsels geführt hat. Außerdem ist die Stichprobe der beprobten Tiere relativ klein und es wurde kein Basalwert vor der Behandlung der Tiere bestimmt. Weiterhin sind die Konzentrationen von Progesteron und Östradiol vorrangig vom Zeitpunkt der Kalbung abhängig. Innerhalb der letzten 48 Stunden vor der Kalbung kommt es zu einem deutlichen Abfall von Progesteron und einem Anstieg von Östradiol (Edqvist et al. 1978, Hiew et al. 2020). In der vorliegenden Studie hatten Tiere, die innerhalb von drei oder vier Tagen nach der Behandlung also innerhalb von 48 Stunden nach der Blutprobenentnahme gekalbt hatten, niedrigere Progesteron- und höhere Östradiol-Werte, als Tiere, die später nach der Blutprobenentnahme kalbten. Diese Dynamik des Östradiol- bzw. Progesteron-Gehalts um die Kalbung im Blut der Tiere könnte mit dem möglichen Effekt der Cholecalciferol-Injektion interferiert haben. Die Progesteron-Konzentration im Blut der Versuchstiere wurde außerdem durch den Betrieb, auf dem die Tiere gehalten wurden, beeinflusst. Die Stichprobengröße auf den einzelnen Betrieben war sehr uneinheitlich (Betrieb 6: 17 Tiere, Betrieb 8: 7 Tiere, Betrieb 9: 4 Tiere, Betrieb 1: 3 Tiere). Auch das Intervall zwischen der Blutprobenentnahme und der Kalbung war sehr variabel. Beide Faktoren könnten als Ursache für den gefundenen Betriebseffekt in Frage kommen. Auch die Fütterung könnte einen Einfluss auf den Progesteronspiegel der Tiere gehabt haben. In einer Studie von Hutchinson et al. (2012) wurden Milchkühe ab ca. 38 Tagen in Laktation über 70 Tage mit einer Ration, die als Fettkomponente Palmitinsäure (gesättigte Fettsäure), konjugierte Linolensäure (zweifach ungesättigte Fettsäure) oder mehrfach ungesättigte Ω -3-Fettsäuren enthielten, gefüttert. Die Tiere, die Palmitinsäure oder konjugierte Linolensäure erhielten, hatten höhere Progesteron-Werte im Blut als die, die mit den mehrfach ungesättigten Ω -3-Fettsäuren versorgt wurden. In dieser Studie wurden die Rationen der Betriebe nicht auf die Gehalte der genannten Fettsäuren oder den Gehalt an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren untersucht, sodass eine Beeinflussung des Progesteron-Gehalts durch die Fütterung nicht ausgeschlossen werden kann und diese daher als mögliche Ursache für den Betriebseffekt in Frage kommt. Die Östradiol-Konzentration war mit der Laktationsnummer der Tiere assoziiert. Tiere in der dritten und vierten Laktation hatten tendenziell höhere Östradiol-Werte als Tiere in der zweiten Laktation. Mögliche Einflussfaktoren könnten hier ebenfalls das Intervall zwischen Blutprobenentnahme und Kalbung sowie die uneinheitliche Verteilung der Stichprobengröße auf den Betrieben sein.

5.2.5 Serumdynamik der Cholecalciferolmetaboliten

Die Auswertung der Ergebnisse der Analyse der Gehalte von Cholecalciferol, 25OHD_3 und $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum einer Stichprobe von 30 Tieren ergab einen hochsignifikanten Effekt ($P < 0,01$) der Behandlung, des Zeitpunktes der Beprobung und der Interaktion aus Behandlung und Zeitpunkt der Beprobung bei allen drei Parametern.

Die Konzentration von Cholecalciferol im Serum der mit 10 Mio. I.E. behandelten Milchkühe war zwei Tage nach der Injektion und damit durchschnittlich fünf Tage vor der Kalbung in der Behandlungsgruppe etwa um den Faktor 100 höher als in der Kontrollgruppe. Die Injektion des Cholecalciferols führte somit zu einer massiven Steigerung der Cholecalciferol-Konzentration im Blut. In den drei Tagen nach der Kalbung sank die Cholecalciferol-Konzentration in der Behandlungsgruppe von 136 ng/ml an Tag 1 p.p. über 95,3 ng/ml an Tag 2 p.p. auf 71,9 ng/ml an Tag 3 p.p., während die Werte in der Kontrollgruppe in diesem Zeitraum auf einem niedrigen Niveau von 4,7 bis 6,0 ng/ml lagen. Das entspricht in den drei Tagen nach der Kalbung noch immer einem etwa 60-fachen Anstieg der Cholecalciferol-Konzentration in der Behandlungsgruppe.

In der Studie von Venjakob et al. (2023) lag die Konzentration von Cholecalciferol in den ersten drei Tagen p.p. in der Gruppe der mit 12 Mio. I.E. behandelten Kühen mit etwa 400, 280 und 250 ng/ml und auch in der Gruppe der mit 6 Mio I.E. behandelten Tiere mit ca. 290, 190 und 110 ng/ml deutlich höher als in der vorliegenden Untersuchung. Eine Ursache hierfür könnte das durchschnittliche Intervall von Injektion bis zur Abkalbung sein, welches in der 2023 veröffentlichten Studie durchschnittlich nur 3,5 Tage in der Gruppe der mit 12 Mio. I.E. behandelten und 6,1 Tage in der mit 6 Mio. I.E. behandelten Kühe betrug, während in der vorliegenden Studie die Tiere erst durchschnittlich 7,1 Tage nach der Injektion abkalbten. So wurde in der aktuellen Untersuchung möglicherweise bereits ein Großteil des Cholecalciferols verstoffwechselt.

In der Studie von Rodney et al. (2018) lag nach oraler Gabe von 3 mg/11 kg TS Cholecalciferol ab dem 255. Tag der Gravidität die Cholecalciferol-Konzentration vor der Kalbung bei 17 ng/ml in der Gruppe der mit positiver DCAB gefütterten Tiere bzw. bei 12 ng/ml in der mit negativer DCAB gefütterten Kühe. Im Vergleich dazu lag die Cholecalciferol-Konzentration in den anderen beiden Gruppen, denen kein Cholecalciferol sondern 25OHD₃ gefüttert wurde, bei ca. 2 ng/ml. In den beiden Gruppen, die Cholecalciferol oral erhielten, fiel der Cholecalciferol-Wert im Blut danach gleichmäßig innerhalb der ersten sechs Tage nach der Kalbung auf ca. 4 ng/ml ab und erreichte so innerhalb weniger Tage ein mit der Kontrollgruppe vergleichbares Niveau (Rodney et al. 2018). Die Autoren vermuteten, dass die signifikant niedrigere Cholecalciferol-Konzentration im Serum der mit negativer DCAB gefütterten Tiere vor der Kalbung teilweise durch die geringere Trockenmasseaufnahme in dieser Gruppe zusammenhing. Allerdings würden die Ergebnisse zeigen, dass dies nicht der alleinige Faktor der erhöhten Cholecalciferol-Konzentration bei den Tieren mit positiver DCAB sei. Die Daten ergeben einen Hinweis darauf, dass die durch die negative DCAB induzierte Azidose die Absorption oder den Metabolismus des Cholecalciferols beeinflusst haben könnte.

Die Umsetzung von Cholecalciferol zu 25OHD₃ erfolgt durch das Enzym CYP27A1 (25-Hydroxylase) und ist v.a. durch die Substratverfügbarkeit reguliert (Jones 2008). Eine hohe Substratkonzentration, in diesem Fall hohe Konzentration von Cholecalciferol, führt entsprechend zu einer vermehrten Produktion von 25OHD₃. In der vorliegenden Untersuchung lag die Konzentration von 25OHD₃ an Tag fünf vor der Kalbung in der Behandlungsgruppe bei 152,1 ng/ml und in der Kontrollgruppe bei 50,6 ng/ml. Die zu diesem Zeitpunkt etwa 100-fach höhere Cholecalciferol-Konzentration in der Behandlungsgruppe führte also zu einem etwa dreifachen Anstieg der 25OHD₃-Konzentration im Blut der Milchkühe. Auch in der Studie von Venjakob et al. (2023) führte eine hohe Cholecalciferol-Konzentration abhängig von der Dosis bei den mit 12 Mio. bzw. 6 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelten Milchkühen zu bis zu achtfach höheren 25OHD₃-Werten im Vergleich mit der Kontrollgruppe. In der Untersuchung von Rodney et al. (2018) lag die 25OHD₃-Konzentration in den Gruppen, deren Ration 3 mg/11 kg TS Cholecalciferol enthielt, bei ca. 55 ng/ml und damit nur marginal höher als die Werte der Kontrollgruppe. Die Steigerung der Serum-Cholecalciferol-Konzentration durch die orale Cholecalciferolsupplementation bei Rodney et al. (2018) auf maximal 17 bzw. 12 ng/ml reichte also nicht aus, die 25OHD₃-Konzentration deutlich zu steigern.

In einer Studie von Sadri et al. (2021), in der den untersuchten Milchkühen ab 21 Tage vor der Kalbung eine Ration mit negativer DCAB (- 81 mEq/kg TS) gefüttert wurde und die Tiere der Behandlungsgruppe zwei bis acht Tage vor der erwarteten Kalbung eine intramuskuläre Injektion mit 8 Mio. I.E. Cholecalciferol erhielten, stieg die 25OHD₃-Konzentration der behandelten Tiere ab Tag 2 nach der Injektion im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant an. Die Autoren führten den um einen Tag verzögerten Anstieg der 25OHD-Konzentration auf das Lösungsmittel des von Ihnen verwendeten Präparates zurück. Lipophile Lösungsmittel verzögern die Resorption des Cholecalciferols von der Injektionsstelle (Yamagishi et al. 2000).

Nach der Kalbung erreichte in der aktuellen Untersuchung die 25OHD₃-Konzentration der mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelten Tiere Werte um 200 ng/ml und blieb zu allen drei Zeitpunkten p.p. auf diesem Niveau, während die Cholecalciferol-Konzentration von 131,8 ng/ml an Tag 1 p.p. über 91,7 ng/ml auf 67,7 ng/ml abfiel. Das Plateau der 25OHD₃-Konzentration nach der Kalbung erklärt sich möglicherweise dadurch, dass sich zu diesen Zeitpunkten die Synthese und der Abbau von 25OHD₃ bzw. die Umwandlung in 1,25(OH)₂D₃ die Waage halten.

Im nächsten Schritt wird 25OHD₃ in der Niere durch die 1 α -Hydroxylase zu 1,25(OH)₂D₃ metabolisiert (Fraser und Kodicek 1973). Dieser Schritt wird streng reguliert und

ist abhängig von der Konzentration von Ca, PTH, P_i und aufgrund eines negativen Feedbackmechanismus auch von 1,25(OH)₂D₃ (Christakos et al. 2019).

In der vorliegenden Untersuchung hatten die sieben Tage vor der Kalbung mit Cholecalciferol behandelten Milchkühe zwei Tage nach der Injektion einen signifikant höheren 1,25(OH)₂D₃-Gehalt im Serum als die Tiere der Kontrollgruppe (Behandlungsgruppe: 89,2 pg/ml, Kontrollgruppe: 34,9 pg/ml). In den drei Tagen nach der Kalbung stieg die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration in beiden Gruppen bis Tag zwei p.p. an und fiel dann wieder leicht ab. Dieser Anstieg war in der Kontrollgruppe jedoch deutlich ausgeprägter als in der Behandlungsgruppe. An Tag drei p.p. war die Konzentration von 1,25(OH)₂D₃ in der Behandlungsgruppe (101,6 pg/ml) signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (155,4 pg/ml) und besonders in der Kontrollgruppe auch deutlich höher als vor der Kalbung. Eine mögliche Ursache des nach der Kalbung weniger ausgeprägten Anstiegs der 1,25(OH)₂D₃-Konzentration im Serum der mit Cholecalciferol behandelten Milchkühe könnte eine noch andauernde Feedback-Hemmung der 1 α -Hydroxylase aufgrund der in dieser Gruppe deutlich höheren 1,25(OH)₂D₃-Werte fünf Tage vor der Kalbung sein.

In dem ähnlich aufgebauten Versuch von Venjakob et al. 2023, bei dem den Tieren in der Vorbereitungsphase eine Ration mit negativer DCAB gefüttert wurde, hatte die Kurve der 1,25(OH)₂D₃-Konzentration in den ersten drei Tagen p.p. einen ähnlichen Verlauf wie in der vorliegenden Untersuchung. Auch in der Studie von Venjakob et al. (2023) war der Anstieg an Tag zwei p.p. in der Kontrollgruppe deutlich ausgeprägter. An Tag eins und zwei p.p. gab es keine signifikanten Unterschiede der 1,25(OH)₂D₃-Konzentration zwischen den Behandlungsgruppen und der Kontrollgruppe. An Tag drei und fünf p.p. war die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration in der Kontrollgruppe signifikant höher als bei den Behandlungsgruppen (Venjakob et al. 2023). In einer Studie von Wilkens et al. (2012) wurde der Effekt einer Supplementation mit 3 mg 25OHD₃ vor der Kalbung in Kombination mit der Fütterung einer positiven bzw. negativen DCAB in der Vorbereitungsration auf die Serum-Ca-Dynamik und die Serum-Konzentrationen von 25OHD₃ bzw. 1,25(OH)₂D₃ untersucht. In allen Gruppen stieg die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration zwischen Tag eins und zwei p.p. auf mehr als das Doppelte der Ausgangskonzentration an und sank dann bis Tag 4 p.p. zurück auf das Ursprungsniveau. Auch in den Studien von Venjakob et al. (2023) und Rodney et al. (2018) stieg die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration ab Tag eins nach der Kalbung an, erreichte den Peak etwa an Tag drei und sank dann bis Tag vier wieder auf den Ursprungswert ab. Dieser Verlauf der 1,25(OH)₂D₃-Konzentration p.p. ist vermutlich auf eine Aktivierung der 1 α -Hydroxylase nach der Kalbung zurückzuführen. Diese wird durch einen PTH-Anstieg im Blut vermittelt, der auf einem Absinken des Serum-Ca-Spiegels beruht, welcher in dem sprunghaft angestiegenen

Ca-Bedarfs des Euters zur Milch- bzw. Kolostrumproduktion in den ersten Stunden p.p. begründet ist.

In der Untersuchung von Rodney et al. (2018) erhielten vier Gruppen von Milchkühen in einem Cross-over-Design ab dem 255. Tag der Trächtigkeit eine Ration mit positiver oder negativer DCAB (+/- 130mEq/kg TS) und einen Zusatz von 3 mg/11 kg TS Cholecalciferol oder 25OHD₃. Die Konzentration von 1,25(OH)₂D₃ lag sechs Tage vor der Kalbung in allen Gruppen auf einem ähnlichen Niveau von etwa 50 pg/ml. Bei Wilkens et al. (2012) unterschieden sich die 1,25(OH)₂D₃-Konzentrationen im Blut der Tiere ebenfalls an Tag vier a.p. nicht voneinander und nahmen in allen Gruppen Werte um 80 ng/ml an. In der vorliegenden Studie betrug die Konzentration von 1,25(OH)₂D₃ fünf Tage vor der Kalbung in der Behandlungsgruppe 89,2 pg/ml im Vergleich zu 34,9 pg/ml in der Kontrollgruppe und war damit in der Behandlungsgruppe signifikant höher ($P < 0,01$). Ursache hierfür könnte die an Tag fünf a.p. mit 152,1 ng/ml dreifach höhere 25OHD₃-Konzentration in der Gruppe der mit Cholecalciferol behandelten Milchkühe sein. In den Untersuchungen von Wilkens et al. (2012) und Rodney et al. (2018) unterschied sich die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration der Kontrollgruppen vier bzw. sechs Tage a.p. jedoch nicht von der 1,25(OH)₂D₃-Konzentration der Gruppen, die vor der Kalbung 25OHD₃ gefüttert bekamen und deren 25OHD₃-Konzentration daraufhin bereits vor der Kalbung auf ähnlich hohe Werte gestiegen war wie in der aktuellen Studie. Allerdings stieg der 25OHD₃-Wert in diesen Untersuchungen durch die orale Gabe über einen längeren Zeitraum vor der Kalbung kontinuierlich und langsam an (Wilkens et al. 2012), während er durch die Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol innerhalb von zwei Tagen das Dreifache des Wertes der Kontrollgruppe erreichte. Möglicherweise ist es durch diesen schnellen, starken Anstieg der 25OHD₃-Konzentration bei den mit Cholecalciferol behandelten Tieren zu einer Aktivierung der 1 α -Hydroxylase gekommen, sodass mehr 1,25(OH)₂D₃ gebildet wurde.

1,25(OH)₂D₃ und 25OHD₃ werden durch Hydroxylierung an Position 24 inaktiviert (Jones et al. 2012). 25OHD₃ wird zu 24,25-Dihydroxycholecalciferol (24,25(OH)₂D₃) metabolisiert und aus 1,25(OH)₂D₃ entsteht durch die Inaktivierung zunächst 1,24,25(OH)₂D₃, das dann zu Calcitroinsäure umgesetzt wird (Jones et al. 2012, Christakos et al. 2019). Das dafür verantwortliche Enzym ist die 24-Hydroxylase (CYP24A1) (Jones 2008). Dessen Aktivität wird durch hohe Ca-, P_i- und 1,25(OH)₂D₃-Konzentrationen gesteigert und durch PTH gehemmt (Kutuzova und DeLuca 2004, Dusso et al. 2005, Christakos et al. 2019). In einer Studie an Schafen führte der durch Fütterung von 25OHD₃ erhöhte 25OHD₃-Spiegel im Blut zu einem starken Anstieg der RNA-Expression von CYP24A1 (Wilkens et al. 2016).

In der vorliegenden Studie lag der Serumwert von $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an Tag 5 vor der Kalbung in beiden Gruppen bei ca. 5 ng/ml und stieg dann in der Behandlungsgruppe von 21,2 ng/ml an Tag 1 und 23,3 an Tag 2 auf 23,5 an Tag 3 p.p. an, während der Wert in der Kontrollgruppe auf einem Niveau von ca. 5,3 ng/ml blieb. Dieser Anstieg ist vermutlich auf die Umsetzung des Cholecalciferols in 25OHD_3 zurückzuführen, welcher zu deutlich erhöhten 25OHD_3 -Werten im Blut der behandelten Tiere führte. Dies steigert die Substratverfügbarkeit des Enzyms CYP24A1 und möglicherweise auch dessen Expression, sodass mehr $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet wird (Wilkens et al. 2016).

In der zur vorliegenden Studie vergleichbar aufgebauten Studie von Venjakob et al. (2023) stieg die $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration in der mit 12 Mio. I.E. behandelten Gruppe zwischen Tag 1 und 2 p.p. von ca. 14 ng/ml auf ca. 18 ng/ml und sank dann zunächst an Tag 3 auf ca. 17 ng/ml, um anschließend bis Tag 10 langsam bis auf ca. 21,5 ng/ml anzusteigen. In der vorliegenden Untersuchung erreichte die $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration bereits an Tag 1 bis 3 p.p. Werte über 20 ng/ml. Ursache hierfür könnte das in der vorliegenden Studie um etwa vier Tage längere Intervall zwischen Injektion und Beprobung sein, sodass bereits mehr 25OHD_3 zu $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hydroxyliert worden sein könnte. Die deutlich niedrigere Cholecalciferol-Konzentration der Behandlungsgruppe in den ersten drei Tagen nach der Kalbung im Vergleich zur Erhebung von Venjakob et al. (2023) untermauert diese Annahme. In der Untersuchung von Rodney et al. (2018), in der vier Gruppen hochtragender Milchkühe in einer Cross-over-Studie jeweils mit einer Ration mit negativer oder positiver DCAB und 3 mg/11kg TS Cholecalciferol oder 25OHD_3 gefüttert wurden, sank die Kurve der $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration an Tag 1 und 2 p.p. in der Gruppe der mit positiver DCAB und 25OHD_3 gefütterten Tiere zunächst ab. Parallel stieg die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration jedoch sprunghaft an, während die Kurve der 25OHD_3 -Konzentration nur langsam abflachte. Durch einen starken PTH-Anstieg an Tag 1 p.p. in dieser Gruppe wurde vermutlich die 1α -Hydroxylase aktiviert und so die Umsetzung von 25OHD_3 in $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gesteigert sowie der Abbau von 25OHD_3 zu $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gehemmt. In den mit negativer DCAB gefütterten Gruppen war der PTH-Anstieg p.p. deutlich geringer, da der Ca-Spiegel in diesen Gruppen in den ersten 48 Stunden nach der Kalbung höher war als in den beiden mit positiver DCAB gefütterten Gruppen. Dieses Ergebnis bestätigt die Hypothese der durch die Azidose entstehenden erhöhten PTH-Sensitivität der Zielgewebe bei Fütterung einer negativen DCAB in der Vorbereiterfütterung (Horst et al. 2003). Da in der vorliegenden Studie und der Studie von Venjakob et al. (2023) die PTH-Konzentration nicht untersucht wurde, bleibt unklar, ob diese ursächlich für den in diesen Studien fehlenden Abfall von $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ p.p. sein könnte.

In der vorliegenden Untersuchung konnten nur geringe Effekte der Cholecalciferol-Injektion auf die Ca-Konzentration innerhalb der ersten 72 Stunden nach der Kalbung

beobachtet werden. Dennoch war die 25OHD₃-Konzentration in den ersten drei Tagen p.p. in der Behandlungsgruppe etwa 3,4-fach höher als in der Kontrollgruppe und erreichte ähnliche Werte wie in der Studie von Venjakob et al. (2023). In dieser Studie zeigte sich an Tag 1 p.p. ein dosisabhängiger Effekt des Cholecalciferols auf die Ca-Konzentration im Serum der behandelten Milchkühe. An Tag 2 und 3 p.p. waren lediglich die Serum-Ca-Werte der mit 12 Mio. I.E. behandelten Tier signifikant höher als in der nicht behandelten Kontrollgruppe. Zeitgleich konnte außerdem ein signifikanter, dosisabhängiger Effekt der Injektion auf die 25OHD₃-Konzentration im Blut der Tiere in den ersten 10 Tagen p.p. nachgewiesen werden, während sich die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration der verschiedenen Gruppen in den ersten beiden Tagen p.p. nicht signifikant voneinander unterschied und an Tag 3 und 5 in der Kontrollgruppe signifikant höhere Werte als bei den behandelten Tieren annahm. Die Autoren schlossen daraus, dass nicht das 1,25(OH)₂D₃ für die Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die Serum-Konzentration von Ca verantwortlich sei, sondern der biologisch deutlich weniger aktive Cholecalciferolmetabolit 25OHD₃, der in sehr hohen Konzentrationen auch an den VDR binden und so eine ähnliche Wirkung wie 1,25(OH)₂D₃ vermitteln kann (DeLuca et al. 2011). Neben einer direkten Wirkung des 25OHD₃ am VDR könnte es möglicherweise auch indirekt durch Verdrängung des endogenen 1,25(OH)₂D₃ vom DBP im Blut zu einer gesteigerten Ca-Konzentration gekommen sein (Lütke-Dörhoff et al. 2022). Sowohl 25OHD₃ als auch 1,25(OH)₂D₃ liegen im Blut fast ausschließlich an DBP gebunden vor (Powe et al. 2013). Da 25OHD₃ eine höhere Bindungsaffinität als 1,25(OH)₂D₃ hat (Tanaka und Deluca 1973), könnte es in hohen Konzentrationen das 1,25(OH)₂D₃ vom DBP verdrängen und so die Konzentration des aktiven, freien 1,25(OH)₂D₃ erhöhen (Lütke-Dörhoff et al. 2022). In der Folge könnte die gesteigerte Konzentration des freien 1,25(OH)₂D₃ die Ca-Konzentration im Blut gesteigert haben.

Die Ursache dafür könnte darin bestehen, dass sehr hohe 25OHD₃-Konzentrationen, die durch die Injektion einer hohen Dosis Cholecalciferol entstehen (substratabhängige Umsetzung von Cholecalciferol in 25OHD₃), die 1,25(OH)₂D₃-Konzentration vermindert. Venjakob et al. (2023) vermuten, dass diese Hemmung einerseits durch die durch hohe 25OHD₃-Konzentrationen gesteigerte Aktivität der 24-Hydroxylase bedingt sein könnte, die so zu einer gesteigerten Inaktivierung von 25OHD₃ und 1,25(OH)₂D₃ geführt hätte, was sich in den signifikant höheren 24,25(OH)₂D₃-Konzentrationen im Blut der behandelten Tiere in den ersten sieben Tagen p.p. widerspiegelt. Andererseits könnte die Bindung von 25OHD₃ an den VDR die Signaltransduktion aktiviert und so zum verstärkten Einbau von Ca-Kanälen im Darm geführt haben. Durch den dadurch erhöhten Ca-Spiegel im Blut werde weniger PTH ausgeschüttet und daraus resultierend die Aktivität der 1 α -Hydroxylase gehemmt. Entsprechend würde weniger 25OHD₃ zu 1,25(OH)₂D₃ umgesetzt.

In der aktuellen Studie erreichte die 25OHD₃-Konzentration der mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol behandelten und während der Trockenstehphase mit einer positiven DCAB gefütterten Milchkühe ähnlich hohe Werte wie in der Untersuchung von Venjakob et al. (2023). Dennoch konnte nur ein deutlich geringer ausgeprägter Effekt der Injektion auf die Serum-Ca-Konzentration der Tiere beobachtet werden. Eine mögliche Ursache hierfür könnte der Unterschied in der DCAB der während der Trockenstehphase gefütterten Ration sein.

5.2.6 Milchmenge in den ersten fünf Milchleistungsprüfungen post partum

Die Auswertung der Milchmengen der ersten fünf Milchleistungsprüfungen p.p. ergab keinen Zusammenhang mit einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol oder 10 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung sieben Tage vor der errechneten Kalbung ($P = 0,67$). Auch die Interaktion aus Behandlung und dem Testtag hatte keinen Einfluss auf die Milchleistung ($P = 0,75$). Signifikant mit der Milchleistung der ersten fünf Milchleistungsprüfungen p.p. assoziiert waren der Betrieb, die Nummer der Milchleistungsprüfung, die Laktationsnummer, die 305-Tage-Milchleistung der Vorlaktation und das Auftreten einer Totgeburt. Die fehlende Assoziation von Behandlung und Milchmenge fügt sich in die übrigen Ergebnisse dieser Studie ein. Die Injektion der 10 Mio. I.E. Cholecalciferol führte nicht zu einer signifikanten Beeinflussung des Ca-Haushalts um die Geburt und es gab nur geringe Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt (signifikant höheres Risiko für Retentio secundinarum). In einer Studie, die die Fütterung einer positiven oder negativen DCAB (+/- 130 mEq/kg TS) mit einer Supplementierung von 25OHD₃ bzw. Cholecalciferol kombiniert hatte, konnte ein positiver Effekt der 25OHD₃-Supplementierung auf die Milchleistung bis 49 Tage in Milch gezeigt werden (Martinez et al. 2018b). In der gleichen Studie zeigte sich ebenfalls eine Reduktion des Risikos für Retentio secundinarum und Metritis bei Fütterung von 25OHD₃ (Martinez et al. 2018a). In der Studie von Venjakob et al. (2022) hingegen hatten die einmalig mit 12 I.E. Cholecalciferol intramuskulär behandelten Tiere ein höheres Risiko für Retentio secundinarum und Metritis und vermutlich dadurch bedingt durchschnittlich 3,7 kg weniger Milch in der ersten und 2,8 kg weniger Milch in der zweiten Milchleistungsprüfung nach der Kalbung. Die Milchkühe, die eine weitere Cholecalciferol-Injektion mit 10 Mio. I.E. Cholecalciferol erhielten, hatten durchschnittlich 3,8 kg weniger Milch in der ersten Milchleistungsprüfung. Im Gegensatz zur Ca-, P_i- und Mg-Konzentration konnte hier kein dosisabhängiger Effekt der Injektion auf die Milchleistung beobachtet werden.

Die Betriebe, die an der Studie teilgenommen haben, hatten unterschiedliche durchschnittliche Milchleistungsniveaus. Dies erklärt den gefundenen Zusammenhang der Milchleistung mit dem Betrieb. Ursächlich für die Assoziation des Testtages (also der Nummer der Milchleistungsprüfung) mit der Milchleistung ist der natürliche Verlauf der Milchproduktion während der Laktation. Im Verlauf der Laktation steigt die Milchleistung von der ersten zur

zweiten Milchleistungsprüfung zunächst an und sinkt dann über die übrigen Testtage langsam ab (Abbildung 8). Die Laktationsnummer und die Milchleistung sind positiv korreliert (Huth 1995). Dieser Zusammenhang zeigte sich auch in der vorliegenden Studie. In einer Studie aus den USA sank die Milchproduktion bei Tieren, die eine Totgeburt hatten, um 1,1 kg/Tag in den ersten fünf Milchleistungsprüfungen (Bicalho et al. 2008). Auch in der vorliegenden Studie war die Milchleistung negativ mit dem Auftreten von Totgeburten assoziiert.

5.2.7 Günstzeit und Abgangsrate

Der Anteil nicht tragender Tiere nahm über die Zeit nach der Kalbung in beiden Gruppen kontinuierlich ab, da die Tiere nach Ablauf der freiwilligen Wartezeit wieder belegt wurden (Abbildung 9). Es gab keinen Effekt der Behandlung. Es konnte jedoch eine Assoziation mit dem Betrieb ($P < 0,01$) und der Laktationsnummer ($P = 0,09$) gezeigt werden. Auf den Betrieben werden u.a. abhängig vom Leistungsniveau der Tiere unterschiedliche freiwillige Wartezeiten eingehalten. Erst nach Ablauf der freiwilligen Wartezeit wird begonnen, die Tiere in Brunst zu besamen. Dies ist eine mögliche Ursache für den gefundenen Betriebseffekt. Zu dem Einfluss der Parität auf die Fertilität von Milchkühen finden sich in der Literatur uneinheitliche Ergebnisse. In einigen Studien hatten Kühe mit höheren Laktationszahlen einen höheren Erstbesamungserfolg und eine kürzere Günstzeit (Kruif 1978, Stevenson und Call 1988). In anderen Studien hatten jüngere Tiere - auch in Abhängigkeit vom genutzten Reproduktionsprotokoll - bessere oder ähnliche Reproduktionsergebnisse wie ältere Milchkühe (Hansen et al. 1983, Hillers et al. 1984, Gröhn und Rajala-Schultz 2000, Astiz und Fargas 2013). In der vorliegenden Studie hatten Tiere, die zu Beginn der Studie in der ersten Laktation waren, die kürzeste Günstzeit. Mit steigender Laktationszahl stieg auch die Zeitspanne zwischen Kalbung und erfolgreicher Besamung.

Es konnte kein Einfluss der Behandlung mit Cholecalciferol auf die Merzungsrate innerhalb der ersten 300 Tage in Laktation beobachtet werden. Dies deckt sich mit anderen Studien, die den Effekt einer Behandlung mit Cholecalciferol intramuskulär oder oral vor der Kalbung auf die Merzungsrate innerhalb der ersten 300 bzw. 305 Tage in Laktation untersucht haben (Martinez et al. 2018a, Venjakob et al. 2022). Neben vielen anderen tierspezifischen Ursachen für einen Abgang des Tieres ist auch das Alter bzw. eine höhere Laktationszahl ein Risikofaktor für eine Merzung des Tieres (Rilanto et al. 2020). Auch in der vorliegenden Studie war die Laktationsnummer positiv mit der Merzungsrate korreliert ($P < 0,01$).

5.3 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die eingangs aufgestellte Hypothese, eine intramuskuläre Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol ca. fünf bis sieben Tage vor der erwarteten Abkalbung hat keinen Einfluss auf die Milchproduktion und das Auftreten von Retentio secundinarum und Metritis p.p., konnte

größtenteils bestätigt werden. Die Cholecalciferol-Injektion hatte in der vorliegenden Untersuchung keinen Einfluss auf die Milchleistung der Kühe in der Folgelaktation. Auch gab es - abgesehen von einer höheren Inzidenz von Retentio secundinarum in der Behandlungsgruppe - zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe keine Unterschiede hinsichtlich der Inzidenz von Metritis, der Gützeit und der Abgangsrate bis zum 300. Laktationstag. Ursache für die höhere Inzidenz von Nachgeburtsverhalten könnte auch die höhere Inzidenz von Totgeburten in der Gruppe der mit Cholecalciferol behandelten Milchkühe sein.

Aufgrund der Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchung von Venjakob et al. (2022) war ein positiver Effekt der Injektion des Cholecalciferols auf die Serum-Ca-Konzentration innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Kalbung zu erwarten. Dieser konnte bei der untersuchten Teilstichprobe von 95 Tieren in der aktuellen Studie in abgeschwächter Form ebenfalls nachgewiesen werden. Als Ursache für den geringeren Effekt kommen die positive DCAB in der Vorbereiterfütterung, die verminderte Dosierung des Cholecalciferols oder das multizentrische Studiendesign in Frage. Wahrscheinlich führte die geringere Ausprägung der Auswirkung des Cholecalciferols auf den Serum-Ca-Spiegel p.p. in der vorliegenden Untersuchung jedoch zu einer Unterschätzung der notwendigen Stichprobengröße, um den Effekt der Cholecalciferol-Injektion nach der Kalbung tatsächlich sichtbar zu machen. In diesem Zusammenhang sind weitere Untersuchungen notwendig.

Die Untersuchung der Blutproben einer Teilstichprobe von 38 Tieren auf die Gehalte an Progesteron und Östradiol ergab keinen signifikanten Effekt der Behandlung mit Cholecalciferol. In der Vorstudie vermuteten die Autoren, dass die in ihrer Untersuchung verkürzte Trächtigkeitsdauer in der Behandlungsgruppe zu der höheren Inzidenz von Retentio secundinarum und folglich auch zu einem gesteigerten Auftreten von Metritis geführt haben könnte. In der vorliegenden Untersuchung war die Trächtigkeitsdauer in der Behandlungsgruppe nicht verkürzt und es konnten (abgesehen von der höheren Inzidenz von Retentio secundinarum) keine negativen Auswirkungen auf die Inzidenz von Metritis und die Gützeit nachgewiesen werden.

Die Daten der Analyse der Blutproben von 30 Tieren auf die Konzentrationen von Cholecalciferol, 25OHD_3 , $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ liefern deutliche Hinweise darauf, dass die geringe Steigerung des Serum-Ca-Spiegels p.p. in der Behandlungsgruppe vermutlich durch eine hohe Konzentration von 25OHD_3 vermittelt wurde. Die Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol führte zu vierfach höheren 25OHD_3 -Konzentrationen in den ersten drei Tagen nach der Abkalbung, während der Anstieg der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration p.p. in der Kontrollgruppe deutlicher ausgeprägt war.

6 Zusammenfassung

Multizentrische Studie zur Injektion von Cholecalciferol ante partum als Hypocalcämieprophylaxe bei pluriparen Milchkühen

Hypocalcämie ist eine häufig auftretende Stoffwechselstörung der Milchkuh im Zeitraum bis 48 Stunden nach der Abkalbung. Die subklinische Hypocalcämie wird in diesem Zusammenhang häufig als „gateway disease“ bezeichnet, da sie zu zahlreichen Folgeerkrankungen prädisponiert und so zu erheblichen wirtschaftlichen Einbußen und einer Beeinträchtigung der Tiergesundheit führt. Seit den 1970er-Jahren wird bei mehrkalbigen Milchkühen ca. fünf bis sieben Tage vor der erwarteten Kalbung Cholecalciferol gespritzt. Ziel ist es, die Mechanismen der Calciumhomöostase bereits vor der Kalbung zu aktivieren und die Tiere so besser auf das bei Einsetzen der Milchproduktion entstehende Calciumdefizit vorzubereiten (Gürtler et al. 1977).

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer Cholecalciferol-Injektion a.p. auf die Serumdynamik von Calcium, Phosphor und Magnesium nach der Kalbung sowie auf die Milchleistung und verschiedene Reproduktionsparameter in der Folgelaktation untersucht. Dazu wurden 446 pluripare Milchkühe, die in der Trockenstehphase eine Ration mit positiver DCAB erhielten, von 11 Betrieben in Nordwest-Deutschland sieben Tage vor dem Kalbedatum mit einer intramuskulären Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol oder einem Placebo behandelt. Alle Tiere wurden fünf bis zehn Tage nach der Kalbung auf Anzeichen einer Metritis untersucht und der Kalbeverlauf sowie das Auftreten von Zwillingen, Totgeburten, klinischer Hypocalcämie und Retentio secundinarum dokumentiert. Bei einer Teilstrichprobe von 95 Tieren wurden an Tag 1, 2 und 3 p.p. jeweils eine Blutprobe entnommen und auf die Konzentration von Calcium, Phosphor und Magnesium untersucht. Des Weiteren wurde bei 38 Tieren zusätzlich zwei Tage nach der Injektion eine weitere Blutprobe entnommen und der Gehalt an Progesteron und Östradiol bestimmt. Die Blutprobensätze von 30 Tieren, bei denen zu allen vier Zeitpunkten Blut gewonnen wurde, wurden zudem auf die Konzentrationen von Cholecalciferol, 25-Hydroxycholecalciferol (25OHD_3), 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) und 24,25-Dihydroxycholecalciferol ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) untersucht, um die Metabolisierung des Cholecalciferols im Organismus nachvollziehen zu können. Nach Ende des Beobachtungszeitraums (Mai 2022 bis September 2023) wurden die gesammelten Milchleistungsdaten und Reproduktionsparameter ausgewertet.

Die Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol sieben Tage vor der Kalbung hatte keinen Einfluss auf die Milchleistung in der Folgelaktation ($P = 0,67$). Die Tiere der Behandlungsgruppe hatten tendenziell höhere Serum-Ca-Werte in den ersten drei Tagen p.p. ($P = 0,08$). Es konnten außer einer erhöhten Inzidenz von Retentio secundinarum in der

Behandlungsgruppe (Kontrolle: 7,9%, Behandlung: 14,8%, $P = 0,02$) keine Auswirkungen der Cholecalciferol-Injektion auf die Inzidenzen von Totgeburten, klinischer Hypocalcämie und Metritis sowie die Milchleistungsdaten und Reproduktionsparameter beobachtet werden.

Die Analyse der Konzentrationen von Progesteron und Östradiol vor der Kalbung ergab keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($P = 0,81$). Die Hypothese aus einer ähnlich aufgebauten Studie von Venjakob et al. (2022) mit Fütterung einer negativen DCAB in der Vorbereiterration, dass die Cholecalciferol-Injektion den Steroidhormonmetabolismus dahingehend beeinflusst hätte, dass es zu einem frühzeitigen Abbau von Progesteron zu Östradiol und damit zu einer vorzeitigen Initiierung der Abkalbung gekommen sein könnte, konnte anhand dieser Ergebnisse nicht bestätigt werden.

Die Untersuchung der Blutproben auf den Gehalt von Cholecalciferol, 25OHD_3 , $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ergab einen etwa 100-fachen Anstieg der Cholecalciferol-Konzentration auf 464,0 ng/ml zwei Tage nach der Injektion und einen vierfachen Anstieg der 25OHD_3 -Konzentration auf bis zu 205,5 ng/ml in den ersten drei Tagen p.p. in der Behandlungsgruppe. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration im Serum der mit Cholecalciferol behandelten Tiere erreichte fünf Tage vor der Kalbung deutlich höhere Werte (89,2 pg/ml) als bei den mit einem Placebo behandelten Tieren (34,9 pg/ml). Nach der Kalbung zeigte jedoch die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration in der Kontrollgruppe einen stärkeren Anstieg (Behandlung: 122,9 pg/ml; Kontrolle: 166,0 pg/mL an Tag zwei p.p.), sodass der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Wert an Tag drei p.p. in der Kontrollgruppe signifikant höher lag (Behandlung: 101,6 pg/ml; Kontrolle: 155,6 pg/ml; $P < 0,05$). Diese Ergebnisse zeigen, dass die Wirkung der Cholecalciferol-Injektion auf den Serum-Ca-Spiegel p.p. in der vorliegenden Untersuchung vermutlich durch 25OHD_3 vermittelt wurde.

Insgesamt zeigen die Resultate dieser Untersuchung, dass die Kombination einer Injektion von 10 Mio. I.E. Cholecalciferol ca. sieben Tage vor der erwarteten Kalbung und der Fütterung einer kationenreichen Ration in der Trockenstehphase zu deutlich geringeren Auswirkungen auf die Serumdynamik von Ca und P_i als die Kombination mit einer Vorbereiterration mit negativer DCAB führte. Es konnten abgesehen von einer höheren Inzidenz von Retentio secundinarum in der Behandlungsgruppe dennoch keine negativen Effekte auf die Inzidenz von Metritis sowie die Milchleistung und Gützeit in der Folgelaktation nachgewiesen werden.

7 Summary

Multisite study to evaluate a prepartum cholecalciferol injection for prevention of hypocalcemia in pluriparous dairy cows

Hypocalcemia is a common metabolic disorder in dairy cows up to 48 hours after calving. In particular, subclinical hypocalcemia often described as a gateway disease predisposes the cow to numerous subsequent diseases and thus leads to major economic losses. Injectable cholecalciferol is used for prevention of hypocalcemia in pluriparous dairy cows since the 1970s (Gürtler et al. 1977). The injection was recommended to be performed approximately five to seven days before the expected parturition, in order to activate calcium metabolism already before calving as the calcium demand increases dramatically at the onset of lactation.

In the present study we investigated the effect of a treatment with an intramuscular injection of 10×10^6 IU of cholecalciferol on serum dynamics of calcium, phosphorus and magnesium after calving as well as on milk production and reproductive parameters in subsequent lactation. For this purpose, 446 pluriparous dairy cows of 11 farms in northwest Germany received a diet with positive DCAD during the dry period and were treated with an intramuscular injection of 10×10^6 IU of cholecalciferol or a placebo (10 ml of NaCl 0,9%) seven days before calving. After parturition, calving related data were recorded (i.e. calving ease, stillbirth, twins) and cows were monitored for retained placenta and clinical signs of hypocalcemia. In a subsample of 95 animals, blood samples were drawn on 1st, 2nd, and 3rd DIM and analyzed for serum calcium, phosphorus and magnesium concentration. All animals were examined once between 5 to 10 DIM for signs of metritis. In 38 animals, an additional blood sample was drawn 2 days after the injection for determination of the progesterone and estrogen concentration. Blood samples of 30 animals drawn 2 days after injection and on 1st, 2nd, and 3rd DIM were also analyzed for cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol (25OHD₃), 1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)₂D₃) and 24,25-dihydroxycholecalciferol (24,25(OH)₂D₃) concentrations to evaluate cholecalciferol metabolism. At the end of the observation period (May 2022 to September 2023), the effect of cholecalciferol treatment on milk production and reproduction parameters in subsequent lactation were analyzed.

The injection of 10×10^6 IU cholecalciferol had no effect on milk production in subsequent lactation ($P = 0.67$). Animals in the treatment group tended to have higher serum Ca levels during the first three days after calving ($P = 0.08$). Beside a higher incidence of retained placenta in the treatment group (control: 7.9%, treatment: 14,8%, $P = 0.02$), no effects of the treatment with cholecalciferol on the incidence of stillbirths, clinical hypocalcaemia, metritis, days to pregnancy and culling risk were observed.

Analyses of progesterone and oestrogen concentrations before calving revealed no differences between the two groups ($P = 0,81$). The hypothesis from a similar investigation that cholecalciferol treatment may result in an early degradation of progesterone to estrogen and therefore shortened gestation length (Venjakob et al., 2022) could not be confirmed. In this study, however, close-up cows were fed with a negative DCAD diet.

Analysis of blood samples for serum cholecalciferol, 25OHD₃, 1,25(OH)₂D₃ and 24,25(OH)₂D₃ revealed an approximately 100-fold increase in serum cholecalciferol concentrations of treated animals to 464.0 ng/ml two days after injection and a 4-fold increase in serum 25OHD₃-concentration up to 205.5 ng/ml at the first three DIM in the treatment group. The serum 1,25(OH)₂D₃ concentration in the treatment group (89.2 pg/ml) was five days before calving significantly higher than in the control group (34.9 pg/ml). After calving the serum 1,25(OH)₂D₃ concentration in the control group showed a greater increase (treatment: 122.9 pg/ml; control: 166.0 pg/ml on day two p.p.). On 3rd DIM the 1,25(OH)₂D₃ concentration was significantly higher in the control group (treatment: 101.6 pg/ml; control: 155.6 pg/ml; $P < 0.05$). These results indicate that the effect of cholecalciferol treatment on serum Ca levels p.p. in the present study was probably mediated by 25OHD₃.

Overall, the results of this study show, that the combination of an antepartum injection of 10×10^6 IU of cholecalciferol approximately seven days before the expected calving and a positive DCAD during the dry period led to much smaller effects on the serum dynamics of calcium and phosphorus than the combination with a negative DCAD diet. Apart from a higher incidence of retained placenta in the treatment group, there were no negative effects on the incidence of metritis, milk production and time to pregnancy in subsequent lactation.

8 Literaturverzeichnis

Abu Damir H, Phillippo M, Thorp BH, Milne JS, Dick L, Nevison IM (1994):

Effects of dietary acidity on calcium balance and mobilisation, bone morphology and 1,25 dihydroxyvitamin D in prepartal dairy cows.

Res Vet Sci, 56, 310–318. doi: 10.1016/0034-5288(94)90147-3.

Al-Eknaah MM, Noakes DE (1989):

A preliminary study on the effect of induced hypocalcaemia and nifedipine on uterine activity in the parturient cow.

J Vet Pharmacol Ther, 12, 237–239. doi: 10.1111/j.1365-2885.1989.tb00666.x.

Allen WM, Davies DC (1981):

Milk Fever, Hypo-Magnesaemia and the 'Downer Cow' Syndrome.

Brit Vet J, 137, 435–441. doi: 10.1016/S0007-1935(17)31644-5.

Amanlou H, Akbari AP, Farsuni NE, Silva-del-Río N (2016):

Effects of subcutaneous calcium administration at calving on mineral status, health, and production of Holstein cows.

J Dairy Sci, 99, 9199–9210. doi: 10.3168/jds.2015-10844.

Astiz S, Fargas O (2013):

Pregnancy per AI differences between primiparous and multiparous high-yield dairy cows after using Double Ovsynch or G6G synchronization protocols.

Theriogenology, 79, 1065–1070. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.01.026.

Balachandar R, Pullakhandam R, Kulkarni B, Sachdev HS (2021):

Relative Efficacy of Vitamin D2 and Vitamin D3 in Improving Vitamin D Status: Systematic Review and Meta-Analysis.

Nutrients, 13. doi: 10.3390/nu13103328.

Beckman MJ, DeLuca HF (2002):

Regulation of renal vitamin D receptor is an important determinant of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 levels in vivo.

Arch Biochem Biophys, 401, 44–52. doi: 10.1016/S0003-9861(02)00010-3.

Beitz DC, Burkhart DJ, Jacobson NL (1974):

Effects of calcium to phosphorus ratio in the diet of dairy cows on incidence of parturient paresis.

J Dairy Sci, 57, 49–55. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(74)84830-7.

Bell NH, Shaw S, Turner RT (1984):

Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the hepatic production of 25-hydroxyvitamin D in man.

J Clin Invest, 74, 1540–1544. doi: 10.1172/JCI111568.

Ben-awadh AN, Delgado-Calle J, Tu X, Kuhlenschmidt K, Allen MR, Plotkin LI, Bellido T (2014):

Parathyroid hormone receptor signaling induces bone resorption in the adult skeleton by directly regulating the RANKL gene in osteocytes.

Endocrinol, 155, 2797–2809. doi: 10.1210/en.2014-1046.

Bicalho RC, Galvão KN, Warnick LD, Guard CL (2008):

Stillbirth parturition reduces milk production in Holstein cows.

Prev Vet Med, 84, 112–120. doi: 10.1016/j.prevetmed.2007.11.006.

Blanc CD, van der List M, Aly SS, Rossow HA, Silva-del-Río N (2014):

Blood calcium dynamics after prophylactic treatment of subclinical hypocalcemia with oral or intravenous calcium.

J Dairy Sci, 97, 6901–6906. doi: 10.3168/jds.2014-7927.

Block E (1984):

Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever.

J Dairy Sci, 67, 2939–2948. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81657-4.

Boda JM (1956):

Further Studies on the Influence of Dietary Calcium and Phosphorus on the Incidence of Milk Fever.

J Dairy Sci, 39, 66–72. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(56)94706-3.

Boda JM, Cole HH (1954):

The Influence of Dietary Calcium and Phosphorus on the Incidence of Milk Fever in Dairy Cattle.

J Dairy Sci, 37, 360–372. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(54)91268-0.

Bouillon R, van Cromphaut S, Carmeliet G (2003):

Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms.

J Cell Biochem, 88, 332–339. doi: 10.1002/jcb.10360.

Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL (2003):

Osteoclast differentiation and activation.

Nature, 423, 337–342. doi: 10.1038/nature01658.

Braun U, Zulliger P, Liesegang A, Bleul U, Hässig M (2009):

Effect of intravenous calcium borogluconate and sodium phosphate in cows with parturient paresis.

Vet Rec, 164, 296–299. doi: 10.1136/vr.164.10.296.

Bronner F, Pansu D, Stein WD (1986):

An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine.

Am J Physiol, 250, G561-9. doi: 10.1152/ajpgi.1986.250.5.G561.

Brown AJ, Dusso A, and Slatopolsky E (1999):

Vitamin D.

Am J Physiol, 277, 157–175.

Brumbaugh PF, Haussler MR (1973):

α ,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor: competitive binding of vitamin D analogs.

Life Sci, 13, 1737–1746. DOI 10.1016/0024-3205(73)90120-3.

Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB, Nydam DV (2017):

Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows.

Theriogenology, 94, 1–7. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.01.039.

Capen CC, Cole CR, Hibbs JW (1966):

The pathology of hypervitaminosis D in cattle.

Pathol Vet, 3, 350–378. doi: 10.1177/030098586600300405.

Carafoli E (1991):

Calcium pump of the plasma membrane.

Physiol rev 71, 71, 129–153.

Christakos S, Li S, La Cruz J de, Bikle DD (2019):

New developments in our understanding of vitamin metabolism, action and treatment.

Metabolism, 98, 112–120. doi: 10.1016/j.metabol.2019.06.010.

Clapham DE (2007):

Calcium signaling.

Cell, 131, 1047–1058. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.028.

Clemens RA, Lowell CA (2015):

Store-operated calcium signaling in neutrophils.

J Leukoc Biol, 98, 497–502. doi: 10.1189/jlb.2MR1114-573R.

Cohrs I, Wilkens MR, Grünberg W (2018):

Short communication: Effect of dietary phosphorus deprivation in late gestation and early lactation on the calcium homeostasis of periparturient dairy cows.

J Dairy Sci, 101, 9591–9598. doi: 10.3168/jds.2018-14642.

Constable PD (2014):

Acid-base assessment: when and how to apply the Henderson-Hasselbalch equation and strong ion difference theory.

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 30, 295-316, doi: 10.1016/j.cvfa.2014.03.001.

Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W (2017):

Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Edition 11. Elsevier, St. Louis, Mo.

Correa MT, Erb HN, Scarlett JM (1992):

A nested case-control study of uterine prolapse.

Theriogenology, 37, 939–945. doi: 10.1016/0093-691X(92)90055-V.

Couto Serrenho R, Bruinjé TC, Morrison EI, DeVries TJ, Duffield TF, LeBlanc SJ (2021):
Controlled trial of the effect of negative dietary cation-anion difference on postpartum health of dairy cows.

J Dairy Sci, 104, 6929–6943. doi: 10.3168/jds.2020-19389.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, White ME, Hillman RB, Pearson EJ (1983):

Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows.

J Am Vet Med Assoc, 183, 559–561.

Curtis RA, Cote JF, McLennan MC, Smart JF, Rowe RC (1987):

Relationship of Methods of Treatment to Relapse Rate and Serum Levels of Calcium and Phosphorous in Parturient Hypocalcemia.

Can Vet J, 19, 155–158.

Daniel RC (1983):

Motility of the Rumen and Abomasum During Hypocalcemia.

Can J Comp Med, 276–280.

DeGaris PJ, Lean IJ (2008):

Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology and control principles.

Vet J, 176, 58–69. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.029.

DeLuca HF, Prael JM, Plum LA (2011):

1,25-Dihydroxyvitamin D is not responsible for toxicity caused by vitamin D or 25-hydroxyvitamin D.

Arch Biochem Biophys, 505, 226–230. doi: 10.1016/j.abb.2010.10.012.

Döcke F (Hrsg.) (1994):

Veterinärmedizinische Endokrinologie

3., völlig überarb. und erw. Aufl. Enke, Sonderausgabe Lehmanns, Jena.

Dohoo IR, Martin WS, Stryhn H (2009):

Veterinary epidemiologic research

2. ed. AVC, Inc, Charlotte, Prince Edward Island.

Domino AR, Korzec HC, McArt JAA (2017):

Field trial of 2 calcium supplements on early lactation health and production in multiparous Holstein cows.

J Dairy Sci, 100, 9681–9690. doi: 10.3168/jds.2017-12885.

Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005):

Vitamin D. American journal of physiology.

Renal physiology, 289, F8-28. doi: 10.1152/ajprenal.00336.2004.

Edqvist LE, Kindahl H, Stabenfeldt G (1978):

Release of prostaglandin F₂α during the bovine peripartal period.

Prostaglandins, 16, 111–119. doi: 10.1016/0090-6980(78)90207-1.

Ellfolk M, Norlin M, Wikvall K (2006):

Isolation and properties of the CYP2D25 promoter: transcriptional regulation by vitamin D₃ metabolites.

Biochem Biophys Res Commun, 345, 568–572. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.04.116.

Ender F, Dishington IW, Helgebostad A (1971):

Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis.

Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd, 28, 233–256. doi: 10.1111/j.1439-0396.1971.tb01573.x.

Felsenfeld AJ, Levine BS (2015):

Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten?

Clin Kidney J, 8, 180–187. doi: 10.1093/ckj/sfv011.

Fraser DR, Kodicek E (1973):

Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone.

Nat New Biol, 241, 163–166. doi: 10.1038/newbio241163a0.

Frost IR, Seely CR, McCray HA, Callero KR, Seminara JA, Martinez RM, Reid AM, Wilbur CN, Koebel KJ, McArt J (2023):

Effect of postpartum calcium supplementation on serum calcium and parathyroid hormone concentrations in multiparous Holstein cows.

J Dairy Sci Communications. doi: 10.3168/jdsc.2023-0455.

Gascon-Barre M (2005):

The Vitamin D 25-Hydroxylase.

In: Feldman D (Hrsg.), Vitamin D. 2. ed. ff. Elsevier, Amsterdam, 47–67.

Gast DR, Horst RL, Jorgensen NA, Deluca HF (1979):

Potential Use of 1,25-Dihydroxycholecalciferol for Prevention of Parturient Paresis.

J Dairy Sci, 62, 1009–1013. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(79)83364-0.

Gaylor JL, Sault FM (1964):

Localization and biosynthesis of 7-dehydrocholesterol in rat skin.

J Lipid Res, 5, 422–431.

Gelfert C-C, Staufenbiel R (2008):

The role of dietary calcium concentration in the use of anionic salts to prevent parturient paresis in dairy cows.

Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 121, 256–262.

GfE-Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001):

Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder.

DLG-Verl., Frankfurt am Main.

Goff JP (1999):

Treatment of Calcium, Phosphorus, and Magnesium Balance Disorders.

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 15, 619–639. doi: 10.1016/S0749-0720(15)30167-5.

Goff JP (2006):

Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders.

Anim Feed Sci Tech, 126, 237–257. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.005.

Goff JP (2008):

The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows.

Vet J, 176, 50–57. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.020.

Goff JP (2014):

Calcium and magnesium disorders.

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 30, 359-81, doi: 10.1016/j.cvfa.2014.04.003.

Goff JP, Hohman A, Timms LL (2020):

Effect of subclinical and clinical hypocalcemia and dietary cation-anion difference on rumination activity in periparturient dairy cows.

J Dairy Sci, 103, 2591–2601. doi: 10.3168/jds.2019-17581.

Goff JP, Horst RL (1993):

Oral Administration of Calcium Salts for Treatment of Hypocalcemia in Cattle.

J Dairy Sci, 76, 101–108. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77328-2.

Goff JP, Horst RL (1997):

Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows.

J Dairy Sci, 80, 176–186. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(97)75925-3.

Goff JP, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET (1988):

Use of 24-F-1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ to Prevent Parturient Paresis in Dairy Cows.

J Dairy Sci, 71, 1211–1219. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79676-9.

Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL (1991b):

Enzymes and Factors Controlling Vitamin D Metabolism and Action in Normal and Milk Fever Cows.

J Dairy Sci, 74, 4022–4032.

Gottschalk J (1999):

Validierte Methode zur Bestimmung von Progesteron und 17 β -Oestradiol.

Labormitteilungen an das Institut für Tierarzneimittel

Gould DH, McAllister MM, Savage JC, Hamar DW (1991):

High sulfide concentrations in rumen fluid associated with nutritionally induced polioencephalomalacia in calves.

Am J Vet Res, 52, 1164–1169.

Greger R, Lang F, Oberleithner H (1978):

Distal site of calcium reabsorption in the rat nephron.

Pflugers Arch, 374, 153–157. doi: 10.1007/BF00581296.

Greiling H, Gressner AM, Büttner J (Hrsg.) (1989):

Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie.

Schattauer, Stuttgart, New York.

Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ (2000):

Epidemiology of reproductive performance in dairy cows.

Anim Reprod Sci, 60-61, 605–614. doi: 10.1016/S0378-4320(00)00085-3.

Grünberg W, Donkin SS, Constable PD (2011):

Periparturient effects of feeding a low dietary cation-anion difference diet on acid-base, calcium, and phosphorus homeostasis and on intravenous glucose tolerance test in high-producing dairy cows.

J Dairy Sci, 94, 727–745. doi: 10.3168/jds.2010-3230.

Gürtler H, Seidel H, Liebaug E (1977):

Prophylaxe der Gebärparese der Milchkuh durch Verabreichen hoher Dosen Vitamin D3. Monatsh. Veterinärmed., 32, 664–668.

Hansen LB, Freeman AE, Berger PJ (1983):

Variances, repeatabilities, and age adjustments of yield and fertility in dairy cattle.

J Dairy Sci, 66, 281–292. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(83)81788-3.

Herm G, Muscher-Banse AS, Breves G, Schröder B, Wilkens MR (2015):

Renal mechanisms of calcium homeostasis in sheep and goats.

J Anim Sci, 93, 1608–1621. doi: 10.2527/jas.2014-8450.

Hernández-Castellano LE, Hernandez LL, Sauerwein H, Bruckmaier RM (2017):

Endocrine and metabolic changes in transition dairy cows are affected by prepartum infusions of a serotonin precursor.

J Dairy Sci, 100, 5050–5057. doi: 10.3168/jds.2016-12441.

Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P (1999):

Postpartum Body Condition Score and Results from the First Test Day Milk as Predictors of Disease, Fertility, Yield, and Culling in Commercial Dairy Herds.

J Dairy Sci, 82, 295–304. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75236-7.

Hiew MWH, Megahed AA, Horstman LA, Constable PD (2020):

Clinical utility of plasma progesterone and blood and plasma glucose concentrations in predicting parturition in Holstein cows.

J Dairy Sci, 103, 5575–5590. doi: 10.3168/jds.2019-17800.

Hillers JK, Senger PL, Darlington RL, Fleming WN (1984):

Effects of production, season, age of cow, days dry, and days in milk on conception to first service in large commercial dairy herds.

J Dairy Sci, 67, 861–867. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81378-8.

Hodnik JJ, Ježek J, Starič J (2020):

A review of vitamin D and its importance to the health of dairy cattle.

J Dairy Res, 87, 84–87. doi: 10.1017/S0022029920000424.

Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van de Graaf SF, van Os CH, Willems PH, Bindels RJ (1999):

Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1, 25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia.

J Biol Chem, 274, 8375–8378. doi: 10.1074/jbc.274.13.8375.

Hoenderop JGJ, Nilius B, Bindels RJM (2005):

Calcium absorption across epithelia.

Physiol Rev, 85, 373–422. doi: 10.1152/physrev.00003.2004.

Hoffmann M (2021):

DCAB - eine hilfreiche Kennzahl in Rationen für Milchkühe.

Abgerufen am: 25.11.2023 um 16:12, von

<https://www.lkvsachsen.de/fuetterungsberater/blogbeitrag/artikel/dcab-eine-hilfreiche-kennzahl-in-rationen-fuer-milchkuehe/>.

Hollis BW, Conrad HR, Hibbs JW (1977):

Changes in plasma 25-hydroxycholecalciferol and selected blood parameters after injection of massive doses of cholecalciferol or 25-hydroxycholecalciferol in non-lactating dairy cows.

J Nutr, 107, 606–613. doi: 10.1093/jn/107.4.606.

Hollis BW, Draper HH, Burton JH, Etches RJ (1981):

A hormonal assessment of bovine parturient paresis: evidence for a role of oestrogen.

J Endocrinol, 88, 161–171. doi: 10.1677/joe.0.0880161.

Horncastle DC (1973):

Atomic absorption spectrophotometry.

Med Sci Law, 13, 3–22. doi: 10.1177/002580247301300102.

Horne WC, Shyu J-F, Chakraborty M, Baron R (1994):

Signal transduction by calcitonin.

Trends Endocrinol Metab, 5, 395–401. doi: 10.1016/1043-2760(95)92521-J.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA (1990):

Advancing Age Results in Reduction of Intestinal and Bone 1,25-Dihydroxyvitamin D Receptor.

Endocrinology, 126, 1053–1057.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA (1994):

Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow.

J Dairy Sci, 77, 1936–1951. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77140-X.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA (2003):

Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient paresis.

Acta Vet Scand Suppl, 97, 35–50.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR (1997):

Strategies for preventing milk fever in dairy cattle.

J Dairy Sci, 80, 1269–1280. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76056-9.

Horsting M, DeLuca HF (1969):

In vitro production of 25-hydroxycholecalciferol.

Biochem Biophys Res Commun, 36, 251–256. doi: 10.1016/0006-291X(69)90322-2.

Hove K, Kristiansen T (1984):

Oral 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ in Prevention of Milk Fever.

Acta Vet Scand, 25, 510–525. doi: 10.1186/BF03546919.

Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ (1999):

Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand.

Proc Natl Acad Sci U S A, 96, 3540–3545. doi: 10.1073/pnas.96.7.3540.

Hutchinson IA, Hennessy AA, Waters SM, Dewhurst RJ, Evans ACO, Lonergan P, Butler ST (2012):

Effect of supplementation with different fat sources on the mechanisms involved in reproductive performance in lactating dairy cattle.

Theriogenology, 78, 12–27. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.12.031.

Huth F-W (1995):

Die Laktation des Rindes. Analyse, Einfluss, Korrektur

147 Tabellen. Ulmer, Stuttgart.

Hymøller L, Jensen SK (2011):

Vitamin D₂ impairs utilization of vitamin D₃ in high-yielding dairy cows in a cross-over supplementation regimen.

J Dairy Sci, 94, 3462–3466. doi: 10.3168/jds.2010-4111.

Hymøller L, Jensen SK (2012):

25-Hydroxycholecalciferol status in plasma is linearly correlated to daily summer pasture time in cattle at 56°N.

Br J Nutr, 108, 666–671. doi: 10.1017/S0007114511005964.

Hymøller L, Jensen SK (2017):

Plasma transport of ergocalciferol and cholecalciferol and their 25-hydroxylated metabolites in dairy cows.

Domest Anim Endocrinol, 59, 44–52. doi: 10.1016/j.domaniend.2016.11.002.

Jones G (2008):

Pharmacokinetics of vitamin D toxicity.

Am J Clin Nutr, 88, 582S-586S. doi: 10.1093/ajcn/88.2.582S.

Jones G, Prosser DE, Kaufmann M (2012):

25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): its important role in the degradation of vitamin D.

Arch Biochem Biophys, 523, 9–18. doi: 10.1016/j.abb.2011.11.003.

Julien WE, Conrad HR, Hibbs JW, Crist WL (1977):

Milk fever in dairy cows. VIII. Effect of injected vitamin D₃ and calcium and phosphorus intake on incidence.

J Dairy Sci, 60, 431–436. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(77)83883-6.

Kamphues J (Hrsg.) (2014):

Supplemente zur Tierernährung. Für Studium und Praxis.

Schaper, Hannover.

Kantham L, Quinn SJ, Egbuna OI, Baxi K, Butters R, Pang JL, Pollak MR, Goltzman D, Brown EM (2009):

The calcium-sensing receptor (CaSR) defends against hypercalcemia independently of its regulation of parathyroid hormone secretion.

Am J Physiol Endocrinol Metab, 297, E915-23. doi: 10.1152/ajpendo.00315.2009.

Keanthao P, Goselink RMA, Dijkstra J, Bannink A, Schonewille JT (2021):

Effects of dietary phosphorus concentration during the transition period on plasma calcium concentrations, feed intake, and milk production in dairy cows.

J Dairy Sci, 104, 11646–11659. doi: 10.3168/jds.2021-20488.

Kerwin AL, Ryan CM, Leno BM, Jakobsen M, Theilgaard P, Barbano DM, Overton TR (2019): Effects of feeding synthetic zeolite A during the prepartum period on serum mineral concentration, oxidant status, and performance of multiparous Holstein cows.

J Dairy Sci, 102, 5191–5207. doi: 10.3168/jds.2019-16272.

Khol JL, Moser K, Miklis A, Dirisamer M, Wittek T (2020):

Wesen, Ursachen, Therapie und Prophylaxe der hypokalzämischen Gebärparese beim Rind. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 48, 173–182. doi: 10.1055/a-1177-2401.

Kichmann V (2023):

Untersuchungen zu Färsenkalbungen anhand endokriner Parameter im peripartalen Zeitraum. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doctor medicinae veterinariae (Dr.

med.,vet.) durch die Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig.
[https://ul.qucosa.de/landingpage/?tx_dlf\[id\]=https%3A%2F%2Ful.qucosa.de%2Fapi%2Fqucosa%253A86336%2Fmets](https://ul.qucosa.de/landingpage/?tx_dlf[id]=https%3A%2F%2Ful.qucosa.de%2Fapi%2Fqucosa%253A86336%2Fmets).

Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET (1982):

Relationships between prepartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism, and parturient paresis in dairy cows.

J Nutr, 112, 480–487. doi: 10.1093/jn/112.3.480.

Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP (2006):

Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle.

J Dairy Sci, 89, 2588–2595. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9.

Kindahl H, Kornmatitsuk B, Gustafsson H (2004):

The cow in endocrine focus before and after calving.

Reprod Domest Anim, 39, 217–221. doi: 10.1111/j.1439-0531.2004.00506.x.

Kochupillai N (2008):

The physiology of vitamin D : current concepts.

Indian J Med Res, 127, 256–262.

Krajisnik T, Björklund P, Marsell R, Ljunggren O, Akerström G, Jonsson KB, Westin G, Larsson TE (2007):

Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 α -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells.

J Endocrinol, 195, 125–131. doi: 10.1677/JOE-07-0267.

Kruif A de (1978): Factors influencing the fertility of a cattle population. J Reprod Fertil, 54, 507–518. DOI 10.1530/jrf.0.0540507.

Kumar R, Thompson JR (2011):

The regulation of parathyroid hormone secretion and synthesis.

J Am Soc Nephrol, 22, 216–224. doi: 10.1681/ASN.2010020186.

Kutuzova GD, DeLuca HF (2004):

Gene expression profiles in rat intestine identify pathways for 1,25-dihydroxyvitamin D(3) stimulated calcium absorption and clarify its immunomodulatory properties.

Arch Biochem Biophys, 432, 152–166. doi: 10.1016/j.abb.2004.09.004.

Lacey D, Timms E, Tan H-L, Kelley M, Dunstan C, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian Y-X, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle W (1998):

Osteoprotegerin Ligand Is a Cytokine that Regulates Osteoclast Differentiation and Activation. *Cell*, 93, 165–176. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81569-X.

Laporta J, Peters TL, Weaver SR, Merriman KE, Hernandez LL (2013 a):
Feeding 5-hydroxy-l-tryptophan during the transition from pregnancy to lactation increases calcium mobilization from bone in rats.
Domest Anim Endocrinol, 44, 176–184. doi: 10.1016/j.domaniend.2013.01.005.

Lauder JM (2004):
A Role for Serotonin in the Mammary Gland.
Developmental Cell, 6, 165. doi: 10.1016/S1534-5807(04)00033-4.

Lean IJ, DeGaris PJ, McNeil DM, Block E (2006):
Hypocalcemia in Dairy Cows: Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited.
J Dairy Sci, 89, 669–684. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72130-0.

Lean IJ, Santos JEP, Block E, Golder HM (2019):
Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis.
J Dairy Sci, 102, 2103–2133. doi: 10.3168/jds.2018-14769.

Leclerc H, Block E (1989):
Effects of reducing dietary cation-anion balance for prepartum dairy cows with specific reference to hypocalcemic periparturient paresis.
Can J Anim Sci, 69, 411–423.

Levene CI, Lawson DE (1977):
A possible effect of vitamin D metabolites on cell adhesion.
Cell Biol Int Rep, 1, 93–97. doi: 10.1016/0309-1651(77)90015-7.

Liesegang A (2008): Influence of anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy goats and sheep. *J Dairy Sci*, 91, 2449–2460. doi: 10.3168/jds.2006-838.

Liesegang A, Chiappi C, Risteli J, Kessler J, Hess HD (2007):
Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows.
J Anim Physiol Anim Nutrition, 91, 120–129. doi: 10.1111/j.1439-0396.2006.00651.x.

Liesegang A, Sassi M-L, Risteli J, Eicher R, Wanner M, Riond J-L (1988):
Comparison of Bone Resorption Markers During Hypocalcemia in Dairy Cows.
J Dairy Sci, 81, 2614–2622.

LittleDike ET, Glazier D, Cook HM (1976):

Electrocardiographic changes after induced hypercalcemia and hypocalcemia in cattle: reversal of the induced arrhythmia with atropine.

Am J Vet Res, 37, 383–388.

Littlelike ET, Goff JP (1980):

Problems with vitamin D injections for prevention of milk fever: Toxicity of large doses and increased incidence with small doses.

J Dairy Sci, 63, 89.

Littlelike ET, Horst RL (1982):

Vitamin D3 toxicity in dairy cows.

J Dairy Sci, 65, 749–759. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(82)82263-7.

Lomba F, Chauvaux G, Teller E, Lengele L, Bienfet V (1978):

Calcium digestibility in cows as influenced by the excess of alkaline ions over stable acid ions in their diets.

Br. J. Nutr., 39, 425.

Lopera C, Zimpel R, Vieira-Neto A, Lopes FR, Ortiz W, Poindexter M, Faria BN, Gambarini ML, Block E, Nelson CD, Santos JEP (2018):

Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows.

J Dairy Sci, 101, 7907–7929. doi: 10.3168/jds.2018-14580.

Lütke-Dörhoff M, Schulz J, Westendarp H, Visscher C, Wilkens MR (2022): Dietary supplementation of 25-hydroxycholecalciferol as an alternative to cholecalciferol in swine diets: A review. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 106, 1288–1305. DOI 10.1111/jpn.13768.

Ma YL, Cain RL, Halladay DL, Yang X, Zeng Q, Miles RR, Chandrasekhar S, Martin TJ, Onyia JE (2001):

Catabolic effects of continuous human PTH in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation.

Endocrinology, 142, 4047–4054. doi: 10.1210/endo.142.9.8356.

Manston R, Payne JM (1964):

Mineral Imbalance in Pregnant “Milk-Fever-Prone” Cows and the Value and Possible Toxic Effects of Treatment with Vitamin D 3 and Dihydrocholesterol.

Brit Vet J, 120, 167–177. doi: 10.1016/S0007-1935(17)41855-0.

Martens H, Deiner C (2016):

Bedeutung von Mg, P, Zeolith und Phytat bei der Gebärparese der Milchkuh.

Prakt Tierarzt, 97, 52–63.

Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão K, Santos JEP (2012):

Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease.

J Dairy Sci, 95, 7158–7172. doi: 10.3168/jds.2012-5812.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, Greco LF, Risco CA, Galvão KN, Taylor-Rodriguez D, Driver JP, Thatcher WW, Santos JEP (2014):

Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows.

J Dairy Sci, 97, 874–887. doi: 10.3168/jds.2013-7408.

Martinez N, Rodney RM, Block E, Hernandez LL, Nelson CD, Lean IJ, Santos JEP (2018a):

Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Health and reproductive responses.

J Dairy Sci, 101, 2563–2578. doi: 10.3168/jds.2017-13740.

Martinez N, Rodney RM, Block E, Hernandez LL, Nelson CD, Lean IJ, Santos JEP (2018b):

Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Lactation performance and energy metabolism.

J Dairy Sci, 101, 2544–2562. doi: 10.3168/jds.2017-13739.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Daetz R, Lopera C, Risco CA, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP (2016a):

Effects of oral calcium supplementation on mineral and acid-base status, energy metabolites, and health of postpartum dairy cows.

J Dairy Sci, 99, 8397–8416. doi: 10.3168/jds.2015-10527.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Daetz R, Risco CA, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP (2016b):

Effects of oral calcium supplementation on productive and reproductive performance in Holstein cows.

J Dairy Sci, 99, 8417–8430. doi: 10.3168/jds.2015-10529.

Martín-Tereso J, Martens H (2014):

Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease).

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 30, 643–670. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.07.007.

Martín-Tereso J, Wijlen H ter, van Laar H, Verstegen MWA (2014):

Peripartal calcium homoeostasis of multiparous dairy cows fed rumen-protected rice bran or a lowered dietary cation/anion balance diet before calving.

J Anim Physio Anim Nutrition, 98, 775–784. doi: 10.1111/jpn.12137.

Mayer GP, Blum JW, Deftos LJ (1975):

Diminished prepartal plasma calcitonin concentration on cows developing parturient hypocalcemia.

Endocrinology, 96, 1478–1485. doi: 10.1210/endo-96-6-1478.

Metzler P, Krause B (1997):

Methodischer Standard bei Studien zur Therapieevaluation.

Methods of Psychological Research Online.

Miltenburg CL, Duffield TF, Bienzle D, Scholtz EL, LeBlanc SJ (2016):

Randomized clinical trial of a calcium supplement for improvement of health in dairy cows in early lactation.

J Dairy Sci, 99, 6550–6562. doi: 10.3168/jds.2016-10961.

Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, Morinaga T, Higashio K (1998):

RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis.

Biochem Biophys Res Commun, 253, 395–400. doi: 10.1006/bbrc.1998.9788.

Neave HW, Lomb J, Keyserlingk MAG von, Behnam-Shabahang A, Weary DM (2017):

Parity differences in the behavior of transition dairy cows.

J Dairy Sci, 100, 548–561. doi: 10.3168/jds.2016-10987.

Nemere I, Leathers VL, Thompson BS, Luben RA, Norman AW (1991):

Redistribution of calbindin-D28k in chick intestine in response to calcium transport.

Endocrinology, 129, 2972–2984. doi: 10.1210/endo-129-6-2972.

Neves RC, Leno BM, Bach KD, McArt JAA (2018):

Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production.

J Dairy Sci, 101, 9321–9331. doi: 10.3168/jds.2018-14587.

NRC-National Research Council (2021):

Nutrient requirements of dairy cattle.

Eighth revised edition. National Academies Press, Washington, DC.

Oehlschlaeger V, Wilkens M, Schroeder B, Daenicke S, Breves G (2014):

Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ on localisation and extent of gastrointestinal calcium absorption in dairy cattle.

Anim. Prod. Sci., 54, 1394. doi: 10.1071/AN14344.

Oetzel GK (1988):

Parturient Paresis and Hypocalcemia in Ruminant Livestock.

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 4, 351–364. doi: 10.1016/S0749-0720(15)31053-7.

Oetzel GR (2013):

Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows.

Vet Clin North Am Food Anim Pract, 29, 447–455. doi: 10.1016/j.cvfa.2013.03.006.

Oetzel GR, Miller BE (2012):

Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds.

J Dairy Sci, 95, 7051–7065. doi: 10.3168/jds.2012-5510.

Olson WG, Jorgensen NA, Schultz LH, Deluca HF (1973):

25-Hydroxycholecalciferol (25-OHD₃) II. Efficacy of Parenteral Administration in Prevention of Parturient Paresis.

J Dairy Sci, 56, 889–895. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(73)85273-7.

Omdahl JL, Morris HA, May BK (2002):

Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation.

Annu Rev Nutr, 22, 139–166. doi: 10.1146/annurev.nutr.22.120501.150216.

Payne JM, Dew SM, Manston R, Faulks M (1970):

The use of a metabolic profile test in dairy herds.

Vet Rec, 87, 150–158. doi: 10.1136/vr.87.6.150.

Pearse AG (1966):

The cytochemistry of the thyroid C cells and their relationship to calcitonin.

Proc R Soc Lond B Biol Sci, 164, 478–487. doi: 10.1098/rspb.1966.0044.

Petrie L, Breeze RG (1977): Hypervitaminosis D and metastatic pulmonary calcification in a cow. Vet Rec, 101, 480–482.

Pleticha S, Drillich M, Heuwieser W (2009):

Evaluation of the Metrichheck device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows.

J Dairy Sci, 92, 5429–5435. doi: 10.3168/jds.2009-2117.

Poindexter MB, Kweh MF, Zimpel R, Zuniga J, Lopera C, Zenobi MG, Jiang Y, Engstrom M, Celi P, Santos JEP, Nelson CD (2020):

Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D3 increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows.

J Dairy Sci, 103, 805–822. doi: 10.3168/jds.2019-16999.

Ponchon G, Kennan AL, Deluca HF (1969):

"Activation" of vitamin D by the liver.

J Clin Invest, 48, 2032–2037. doi: 10.1172/JCI106168.

Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, Tamez H, Zhang D, Bhan I, Karumanchi SA, Powe NR, Thadhani R (2013):

Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans.

N Engl J Med, 369, 1991–2000. doi: 10.1056/NEJMoa1306357.

Ramasamy I (2006):

Recent advances in physiological calcium homeostasis.

Clin Chem Lab Med, 44, 237–273. doi: 10.1515/CCLM.2006.046.

Ramberg CF, Johnson EK, Fargo RD, Kronfeld DS (1984):

Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia.

Am J Physiol, 246, R698-704. doi: 10.1152/ajpregu.1984.246.5.R698.

Rayssiguier Y, Garel JM, Davicco MJ, Barlet JP (1977):

Parathyroid hormone and calcitonin in magnesium-deficient calves.

Horm Metab Res, 9, 438–439. doi: 10.1055/s-0028-1095578.

Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL (2011):

Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds.

Vet J, 188, 122–124. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.025.

Reinholz GG, Deluca HF (1998):

Inhibition of 25-hydroxyvitamin D3 production by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in rats.

Arch Biochem Biophys, 355, 77–83. doi: 10.1006/abbi.1998.0706.

Richardson MD, Logendra S (1997):

Ergosterol as an Indicator of Endophyte Biomass in Grass Seeds.

J. Agric. Food Chem., 45, 3903–3907. doi: 10.1021/jf970117f.

Rilanto T, Reimus K, Orro T, Emanuelson U, Viltrop A, Mõtus K (2020):

Culling reasons and risk factors in Estonian dairy cows.

BMC Vet Res, 16, 173. doi: 10.1186/s12917-020-02384-6.

Roche JR, Dalley DE, O'Mara FP (2007):

Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating pregnant dairy cow.

J Dairy Res, 74, 34–39. doi: 10.1017/S0022029906002123.

Rodney RM, Martinez N, Block E, Hernandez LL, Celi P, Nelson CD, Santos JEP, Lean IJ (2018):

Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism.

J Dairy Sci, 101, 2519–2543. doi: 10.3168/jds.2017-13737.

Rodríguez EM, Arís A, Bach A (2017):

Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows.

J Dairy Sci, 100, 7427–7434. doi: 10.3168/jds.2016-12210.

Rodríguez EM, Bach A, Devant M, Aris A (2016):

Is calcitonin an active hormone in the onset and prevention of hypocalcemia in dairy cattle?

J Dairy Sci, 99, 3023–3030. doi: 10.3168/jds.2015-10229.

Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Fassino V, Mazzei F, D'Erasmo E, Carnevale V, Scillitani A, Minisola S (2008):

Short and long-term variations in serum calciotropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (vitamin D₂) or cholecalciferol (vitamin D₃) in the elderly.

J Clin Endocrinol Metab, 93, 3015–3020. doi: 10.1210/jc.2008-0350.

Sadri S, Mohri M, Seifi HA (2021):

The effects of single intramuscular injection of vitamin D₃ on minerals, hormone, and bone markers responses of multiparous Holstein cows fed a diet with negative dietary cation anion difference.

Comp Clin Pathol, 30, 783–792. doi: 10.1007/s00580-021-03270-9.

Saji F, Shigematsu T, Sakaguchi T, Ohya M, Orita H, Maeda Y, Ooura M, Mima T, Negi S (2010):

Fibroblast growth factor 23 production in bone is directly regulated by 1{alpha},25-dihydroxyvitamin D, but not PTH.

Am J Physiol. Renal Physiol, 299, F1212-7. doi: 10.1152/ajprenal.00169.2010.

Santos JEP, Lean IJ, Golder H, Block E (2019):

Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows.

J Dairy Sci, 102, 2134–2154. doi: 10.3168/jds.2018-14628.

Schenck M, Kolb E (1990):

Grundriss der physiologischen Chemie. Mit 279 Abbildungen und 242 Tabellen.

8., überarb. Aufl. Fischer, Jena.

Schiavi SC, Kumar R (2004):

The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis.

Kidney Int, 65, 1–14. doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.00355.x.

Schonewille J, Van't Klooster A, Dirkzwager A, Beynen A (1994):

Stimulatory effect of an anion(chloride)-rich ration on apparent calcium absorption in dairy cows.

Live Prod Sci, 40, 233–240. doi: 10.1016/0301-6226(94)90091-4.

Schuler G, Fürbass R, Klisch K (2018):

Placental contribution to the endocrinology of gestation and parturition.

Anim Reprod, 15, 822–842. doi: 10.21451/1984-3143-AR2018-0015.

Shappell NW, Herbein JH, Deftos LJ, Aiello RJ (1987):

Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow.

J Nutr, 117, 201–207. doi: 10.1093/jn/117.1.201.

Slater CJ, Endres EL, Weaver SR, Cheng AA, Lauber MR, Endres SF, Olstad E, DeBruin A, Crump PM, Block E, Hernandez LL (2018):

Interaction of 5-hydroxy-l-tryptophan and negative dietary cation-anion difference on calcium homeostasis in multiparous peripartum dairy cows.

J Dairy Sci, 101, 5486–5501. doi: 10.3168/jds.2017-13938.

Staufenbiel R (2023):

Hypokalzämie und Gebärparese – Herausforderung in jeder Herde.

Milchpraxis, 57, 29–35.

Stevenson JS, Call EP (1988):

Fertility of postpartum dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 alpha: a field trial.

J Dairy Sci, 71, 1926–1933. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79762-3.

Tanaka Y, Deluca HF (1971):

Bone mineral mobilization activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D.

Arch Biochem Biophys, 146, 574–578. doi: 10.1016/0003-9861(71)90163-9.

Tanaka Y, Deluca HF (1973):

The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus.

Arch Biochem Biophys, 154, 566–574. doi: 10.1016/0003-9861(73)90010-6.

Taylor MS, Knowlton KF, McGilliard ML, Seymour WM, Herbein JH (2008):

Blood mineral, hormone, and osteocalcin responses of multiparous Jersey cows to an oral dose of 25-hydroxyvitamin D3 or vitamin D3 before parturition.

J Dairy Sci, 91, 2408–2416. doi: 10.3168/jds.2007-0750.

Theodoropoulos C, Demers C, Petit J-L, Gascon-Barre M (2003):

High sensitivity of rat hepatic vitamin D3-25 hydroxylase CYP27A to 1,25-dihydroxyvitamin D3 administration.

Am J Physiol Endocrinol Metab, 284, E138-47. doi: 10.1152/ajpendo.00303.2002.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark J, Larsen T (2002a):

The Effect of Zeolite A Supplementation in the Dry Period on Periparturient Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis.

J Dairy Sci, 85, 1855–1862. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74259-8.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Østergaard S (2002b):

Milk fever control principles: a review.

Acta Vet Scand, 43, 1–19. doi: 10.1186/1751-0147-43-1.

Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R (1998):

Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2.

Am J Clin Nutr, 68, 854–858. doi: 10.1093/ajcn/68.4.854.

Urton G, Keyserlingk MAG von, Weary DM (2005):

Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis.

J Dairy Sci, 88, 2843–2849. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72965-9.

Vagg MJ, Payne JM (1970):

The Effect of Ammonium Chloride Induced Acidosis on Calcium Metabolism in Ruminants.

Brit Vet J, 126, 531–537. doi: 10.1016/S0007-1935(17)48139-5.

van Aken H, Reinhart K, Welte T, Weigand MA, Antolovič D (Hrsg.) (2014):

Intensivmedizin.

Georg Thieme Verlag KG

Venjakob PL, Bauerfeind L, Staufenbiel R, Heuwieser W, Borchardt S, Stangl GI, Hirche F, Kononov SU, Wilkens MR (2023):

Effect of two dosages of prepartum cholecalciferol injection on blood minerals, vitamin D metabolites, and milk production in multiparous dairy cows. A randomized clinical trial.

J Dairy Sci. doi: 10.3168/jds.2023-23389.

Venjakob PL, Bauerfeind L, Staufenbiel R, Wilkens MR, Weber C, Heuwieser W, Borchardt S (2022):

Randomized clinical trial to evaluate the effects of a prepartum cholecalciferol injection on postpartum serum calcium dynamics and health and performance in early-lactation multiparous dairy cows.

J Dairy Sci, 105, 1573–1588. doi: 10.3168/jds.2021-20584.

Venjakob PL, Borchardt S (2021):

Zusammenhang zwischen peripartaler Hypocalcämie und Erkrankungen in der Früh lactation von Milchkühen.

Pferd und Nutztier, 14–19.

Venjakob PL, Borchardt S (2022):

Ursache, Verbreitung und evidenzbasierte Therapie sowie Prävention der peripartalen Hypokalzämie.

Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 50, 174–186. doi: 10.1055/a-1848-5906.

Venjakob PL, Borchardt S, Heuwieser W (2017):

Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds.

J Dairy Sci, 100, 9258–9266. doi: 10.3168/jds.2016-12494.

Venjakob PL, Borchardt S, Thiele G, Heuwieser W (2016):

Evaluation of ear skin temperature as a cow-side test to predict postpartum calcium status in dairy cows.

J Dairy Sci, 99, 6542–6549. doi: 10.3168/jds.2015-10734.

Venjakob PL, Pieper L, Heuwieser W, Borchardt S (2018): Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. J Dairy Sci, 101, 9396–9405. DOI 10.3168/jds.2017-14202.

Venjakob PL, Staufenbiel R, Heuwieser W, Borchardt S (2019):

Serum calcium dynamics within the first 3 days in milk and the associated risk of acute puerperal metritis.

J Dairy Sci, 102, 11428–11438. doi: 10.3168/jds.2019-16721.

Venjakob PL, Staufenbiel R, Heuwieser W, Borchardt S (2021):

Association between serum calcium dynamics around parturition and common postpartum diseases in dairy cows.

J Dairy Sci, 104, 2243–2253. doi: 10.3168/jds.2019-17821.

Vieira-Neto A, Lima IRP, Lopes F, Lopera C, Zimpel R, Sinedino LDP, Jeong KC, Galvão K, Thatcher WW, Nelson CD, Santos JEP (2017):

Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows.

J Dairy Sci, 100, 5805–5823. doi: 10.3168/jds.2016-12506.

Wächter S, Cohrs I, Golbeck L, Wilkens MR, Grünberg W (2022):

Effects of restricted dietary phosphorus supply to dry cows on periparturient calcium status.

J Dairy Sci, 105, 748–760. doi: 10.3168/jds.2021-20726.

Wasserman RH, Taylor AN, and Kallfelz FA (1966):

Vitamin D and transfer of plasma calcium to intestinal lumen in chicks and rats.

Am J Physiol, 211, 419–423.

Waterman DF, Swenson TS, Tucker WB, Hemken RW (1991):

Role of Magnesium in the Dietary Cation-Anion Balance Equation for Ruminants.

J Dairy Sci, 74, 1866–1873. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78352-5.

Weber J, Prusseit J, Staufenbiel R (2021):

Effects of calcium supplementation, incomplete milking, and vitamin D3 injection on serum total calcium concentration during the first 24 hours after parturition in dairy cows fed an anionic diet during late gestation.

Am J Vet Res, 82, 634–643. doi: 10.2460/ajvr.82.8.634.

Wenning P, Grünberg W (2015):

Die Prävention der peripartalen Hypokalzämie des Rindes.

Prakt Tierarzt, 96, 812–821.

Wilhelm AL, Maquivar MG, Bas S, Brick TA, Weiss WP, Bothe H, Velez JS, Schuenemann GM (2017):

Effect of serum calcium status at calving on survival, health, and performance of postpartum Holstein cows and calves under certified organic management.

J Dairy Sci, 100, 3059–3067. doi: 10.3168/jds.2016-11743.

Wilkens MR, Maté LM, Schnepel N, Klinger S, Muscher-Banse AS, Ballent M, Virkel G, Lifschitz AL (2016):

Influence of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on expression of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in sheep.

J Steroid Biochem Mol Biol, 164, 271–276. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.08.019.

Wilkens MR, Nelson CD, Hernandez LL, McArt JAA (2020):

Symposium review: Transition cow calcium homeostasis-Health effects of hypocalcemia and strategies for prevention.

J Dairy Sci, 103, 2909–2927. doi: 10.3168/jds.2019-17268.

Wilkens MR, Oberheide I, Schröder B, Azem E, Steinberg W, Breves G (2012):

Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows.

J Dairy Sci, 95, 151–164. doi: 10.3168/jds.2011-4342.

Wilms J, Wang G, Doelman J, Jacobs M, Martín-Tereso J (2019):

Intravenous calcium infusion in a calving protocol disrupts calcium homeostasis compared with an oral calcium supplement.

J Dairy Sci, 102, 6056–6064. doi: 10.3168/jds.2018-15754.

Wray S, Jones K, Kupittayanant S, Li Y, Matthew A, Monir-Bishty E, Noble K, Pierce SJ, Quenby S, Shmygol AV (2003):

Calcium signaling and uterine contractility.

J Soc Gynecolog Invest, 10, 252–264. doi: 10.1016/s1071-5576(03)00089-3.

Wysolmerski JJ (2010):

Interactions between breast, bone, and brain regulate mineral and skeletal metabolism during lactation.

Ann N Y Acad Sci, 1192, 161–169. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05249.x.

Yamagishi N, Dohmae H, Shirato A, Sato J, Sato R, Naito Y (2000):

Effects of oral administration of "rumen-bypass" vitamin D3 on vitamin D and calcium metabolism in periparturient cows.

J Vet Med Sci, 62, 403–408. doi: 10.1292/jvms.62.403.

Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T (1998):

Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL.

Proc Natl Acad Sci U S A, 95, 3597–3602. doi: 10.1073/pnas.95.7.3597.

Zimpel R, Marinho MN, Almeida KV, Ruiz AR, Perdomo MC, Poindexter MB, Vieira-Neto A, Arshad U, Husnain A, Nelson CD, Santos JEP (2021):

Prepartum level of dietary cation-anion difference fed to nulliparous cows: Acid-base balance, mineral metabolism, and health responses.

J Dairy Sci, 104, 12580–12599. doi: 10.3168/jds.2021-20486.

Anhang

Tabelle 6. Futtermittelanalyse – Untersuchungsparameter

Untersuchungsparameter	Einheit	Referenzwerte	Untersuchungsmethode
Trockensubstanz	g	400 - 500	VDLUFA III, 31.2 – 31.3, 5. Erg. 2004
Rohasche	g	60 – 100	s.o.
Rohprotein	g	140 – 150	s.o.
Rohfaser	g	190 – 220	s.o.
Rohfett	g	30 – 45	s.o.
Zucker	g	100 – 150	s.o.
Stärke	g	30 – 60	s.o.
aNDF	g	360 – 420	s.o.
ADF	g	210 – 250	s.o.
Calcium	g	4,0 – 6,0 *	DIN EN ISO 11885:2009-09
Phosphor	g	3,5 – 4,0	s.o.
Natrium	g	1,2 – 1,5	s.o.
Magnesium	g	2,5 – 3,0	s.o.
Kalium	g	10 – 15	s.o.
Kupfer	mg	10 – 30	s.o.
Zink	mg	50 – 120	s.o.
Mangan	mg	50 – 150	s.o.
Eisen	mg	50 – 750	s.o.
Chlorid	g	3,5 – 8,0	VDLUFA III, 10.5.2, 1976
Schwefel	g	1,5 – 3,0	DIN EN ISO 11885:2009-09
DCAB	mEq	100 – 200	berechnet (nicht akkred.)**

Anhang

Proteinlöslichkeit	% RPr	30 – 40	VDLUFA III, 31.2 – 31.3, 5. Erg. 2004
--------------------	-------	---------	--

* Der angegebene Richtwert bezieht sich auf die calciumarme Vorbereitungsfütterung mit einer DCAB von 100 – 200 mEq/kg TS.

** $DCAB \text{ (mEq/ kg TS)} = (42,5 \times \text{g Na} + 25,6 \times \text{g K}) - (28,2 \text{ g Cl} + 62,3 \text{ g S})$ (Hoffmann 2021)

In Anlehnung an den Prüfbericht der LKS Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft mbH, August-Bebel-Straße 6, 09577 Lichtenwalde.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die in verschiedener Art und Weise zur Erstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich mich bei **Herrn Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel** für das Überlassen des interessanten und praxisnahen Themas bedanken.

Weiterhin danke ich der **Serumwerk Bernburg AG** und dem Verein **Tiergyn e.V.** für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt **Prof. Dr. Mirja Wilkens und ihrem Team** für die Aufarbeitung der Proben für die Messung von Cholecalciferol und dessen Metaboliten, **Prof. Dr. Gabriele Stangl und ihrem Team** für die Messung der Gehalte an Cholecalciferol und dessen Metaboliten, **Prof. Dr. Almuth Einspanier und ihrem Team** für die Messung der Progesteron und Östradiol-Gehalte und **Frau Jacqueline Baeumer** von der Klinik für Kleintiere für die Messung der Calcium-, Phosphor und Magnesium-Konzentrationen.

Ein außerordentlicher Dank geht an meine beiden Betreuer **Herrn Dr. Peter Venjakob** und **Herrn Dr. Stefan Borchardt**. Ihr standet mir immer mit Rat und Tat zur Seite und habt mich auch in schwierigen Momenten immer wieder motivieren können. Danke für eure Hilfsbereitschaft, Tatkräftigkeit und die wertvolle Unterstützung während der gesamten Dissertationszeit. Erst durch eure Hilfe ist diese Arbeit möglich geworden. Mein größter Dank gilt dabei Peter für das ständige Feedback und das offene Ohr auch in anderen Belangen.

Ebenfalls besonders bedanken, möchte ich mich bei den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der **Tierärztlichen Gemeinschaftspraxis Detern-Velde**. Auch ihr hattet alle einen großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit, hattet immer ein offenes Ohr und aufbauende Worte für mich. Vielen Dank v.a. an Christian für die Unterstützung bei der Probennahme und Jakob für die Flexibilität meines Dienstplans.

Ein großer Dank gebührt den **Betriebsleitern und Familien der elf Betriebe**, die an dieser Studie teilgenommen haben. Sie haben mich mit großem Engagement bei der Probennahme unterstützt und mich sehr freundlich in ihre Reihen aufgenommen.

Danke auch an **Natascha** und **Lotta**, die sich meine Sorgen immer angehört haben und bei allen Hochs und Tiefs während dieser Arbeit dabei waren. Ihr habt mich immer motiviert und (auch, wenn ich es manchmal nicht mehr getan habe) an die Fertigstellung dieser Arbeit geglaubt.

Zuletzt möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner **Familie** und meinem Freund **Tammo** bedanken. Vielen Dank, dass ihr mich immer in allem unterstützt und es durch eure Liebe und Zuversicht ermöglicht habt, dass diese Arbeit entstanden ist.

Finanzierungsquellen

Diese Studie wurde finanziell durch die Serumwerk Bernburg AG und den Verein Tiergyn e.V. Berlin unterstützt.

Es besteht kein Interessenskonflikt durch die finanzielle Unterstützung der Studie.

Weiterhin bestehen im Rahmen dieser Arbeit auch keine anderen Interessenskonflikte durch Zuwendungen Dritter.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe.

Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 02.10.2024

Frauke Fokken