

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Der Effekt einer 25(OH)D₃ – Supplementierung
auf die Calciummobilisierungsfähigkeit bei Milchkühen
zum Zeitpunkt der Geburt

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gerhard Zechner
Tierarzt aus Bruck an der Mur (Österreich)

Berlin 2008
Journal-Nr. 3267

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Martens
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. R. Staufenberg
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. O. Simon

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

cattle, dairy cows, parturient paresis, cholecalciferol, calcium, calcium metabolism, metabolic disorders, disease prevention, homeostasis, hypocalcaemia, tests, vitamin d, vitamin supplements

Tag der Promotion: 05.02.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86664-551-6

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Coverbild © M.W. - Fotolia.com

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch verlag** 2009

nordendstr. 75 - 13156 berlin – 030-45494866

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

**MEINER LIEBEN MUTTER,
IN LIEBE UND DANKBARKEIT**

INHALT

1. Einleitung	1
2. Literaturteil	3
2.1 Regulation des Calciumhaushaltes	3
2.1.1 Calcium-sensitiver Rezeptor (CaR)	4
2.1.2 Parathormon (PTH)	5
2.1.3 Calcitonin	7
2.2 Vitamin D-Haushalt und Regulation.....	7
2.2.1 Autokrine/Parakrine Wirkungen von 1,25(OH) ₂ D ₃	10
2.2.2 Vitamin D – Versorgung von Kühen	11
2.2.3 Östrogen	12
2.3 Regulation des epithelialen Calciumtransports in Darm- und Nierenzellen durch 1,25(OH) ₂ D ₃	12
2.4 Supplementierung von 25(OH)D ₃ oder 1,25(OH) ₂ D ₃ bei hochträchtigen Kühen	14
2.5 Gebärparese	23
2.5.1 Allgemeines	23
2.5.2 Vorkommen	23
2.5.3 Prädisponierende Faktoren	23
2.5.4 Pathogenese.....	24
2.5.5 Klinische Symptomatik.....	27
2.5.6 Therapie.....	27
2.5.7 Folgeprobleme	27
2.5.8 Präventive Möglichkeiten.....	28
2.5.9 Praxisrelevante Möglichkeiten	28
2.5.9.1 Allgemeine Prophylaxemaßnahmen	29
2.5.9.2 Spezielle Prophylaxemaßnahmen.....	29
2.5.9.3 Weitere Möglichkeiten	29
2.5.10 Einfluss des DCAB-Konzeptes auf den Calciumhaushalt während der Geburtsphase.....	30
2.6 Zusammenfassung der Literatur mit der daraus resultierenden Aufgabenstellung zum Einsatz von Vitamin D und seinen Metaboliten	32

3. Material und Methoden	35
3.1 Der Betrieb	35
3.2 Fütterung der Versuchstiere	35
3.2.1 Rationszusammensetzung im Verlauf des 1. Experiments.....	36
3.2.2 Rationszusammensetzung im Verlauf des 2. Experiments.....	37
3.3 Auswahl der Versuchstiere und Versuchsaufbau	39
3.3.1 Experiment 1.....	39
3.3.2 Experiment 2.....	40
3.3.3 Supplementierung mit 25(OH)D ₃ – Dosis-Wirkungs-Kurve	40
3.3.4 Probenentnahme, -aufbereitung und -verwahrung	41
3.3.5 Blutproben	41
3.4 Bestimmungsmethoden.....	41
3.5 Verarbeitung der Daten/Statistische Auswertung	42
4. Ergebnisse.....	45
4.1 Elektrolyte – Experiment 1.....	45
4.1.1 Gesamtcalcium (Ca _{tot}).....	45
4.1.2 Gesamtmagnesium (Mg _{tot}).....	48
4.1.3 Phosphat (P).....	49
4.1.4 Variabilität von Ca _{tot}	50
4.1.4.1 Kontrollgruppe	51
4.1.4.2 Supplementation mit 0.5 mg 25(OH)D ₃	51
4.1.4.3 Supplementation mit 1.0 mg 25(OH)D ₃	52
4.1.4.4 Supplementation mit 2.0 mg 25(OH)D ₃	53
4.1.5 Die Standardabweichung von Ca _{tot} im Gruppenvergleich.....	54
4.1.6 AUC der Ca _{tot} -Mittelwerte im Gruppenvergleich	56
4.1.7 Zusammenfassung der Ergebnisse von Ca _{tot}	57
4.2 Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D ₃	60
4.2.1 Statistische Auswertung von Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D ₃	62
4.2.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 25(OH)D ₃	63
4.3 Dihydroxycholecalciferol – 1,25(OH) ₂ D ₃	65
4.3.1 Statistische Auswertung der Konzentrationen von 1,25(OH) ₂ D ₃	67
4.3.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 1,25(OH) ₂ D ₃	69
4.4 Elektrolyte – Experiment 2.....	70
4.4.1 Gesamtcalcium (Ca _{tot}).....	70
4.4.2 Gesamtmagnesium (Mg _{tot}).....	73
4.4.3 Phosphat (P).....	74

4.4.4	Variabilität von Ca_{tot}	75
4.4.4.1	Kontrollgruppe	75
4.4.4.2	Supplementation mit 1.0 mg 25(OH) D_3	76
4.4.4.3	Supplementation mit 2.0 mg 25(OH) D_3	77
4.4.4.4	Supplementation mit 4.0 mg 25(OH) D_3	78
4.4.5	Die Standardabweichung von Ca_{tot} im Gruppenvergleich.....	79
4.4.6	AUC der Ca_{tot} -Mittelwerte im Gruppenvergleich	81
4.4.7	Zusammenfassung der Ergebnisse von Ca_{tot}	82
4.5	Hydroxycholecalciferol – 25(OH) D_3	85
4.5.1	Statistische Auswertung von Hydroxycholecalciferol – 25(OH) D_3	86
4.5.2	Zusammenfassung der Ergebnisse von 25(OH) D_3	88
4.6	Dihydroxycholecalciferol – 1,25(OH) $_2D_3$	90
4.6.1	Statistische Auswertung der Konzentrationen von 1,25(OH) $_2D_3$	92
4.6.2	Zusammenfassung der Ergebnisse von 1,25(OH) $_2D_3$	94
5.	Diskussion	97
5.1	Die Gebärparese der Milchkuh.....	97
5.1.1	Prophylaktische Möglichkeiten	97
5.2	Vitamin D.....	97
5.2.1	Effekte von Vitamin D bzw. dessen Metaboliten auf den Ca-Haushalt der Kuh.....	98
5.2.2	25-Hydroxycholecalciferol – 25(OH) D_3	100
5.2.2.1	Experiment 1	100
5.2.2.2	Experiment 2	100
5.2.3	Dihydroxycholecalciferol – 1,25(OH) $_2D_3$	101
5.2.3.1	Experiment 1	101
5.2.3.2	Experiment 2	102
5.2.4	Calcium, Magnesium, Phosphat	103
5.2.4.1	Experiment 1	103
5.2.4.2	Experiment 2	105
5.3	Schlussfolgerungen	106
5.4	Empfehlungen	106
6.	Zusammenfassung	109
7.	Summary	111
8.	Literaturverzeichnis.....	113
9.	Verzeichnis der Abbildungen	127

Inhalt

10. Verzeichnis der Tabellen.....	131
11. Danksagung.....	133
12. Selbstständigkeitserklärung	136

ABKÜRZUNGEN UND DEFINITIONEN

<	kleiner als
>	größer als
≤	kleiner oder gleich groß als
≥	größer oder gleich groß als
°C	Grad Celsius, Temperatureinheit
à	je, zu, zu je
a.p.	<i>ante partum (lat.)</i> ; vor der Geburt
Abb.	Abbildung
ad lib.	<i>ad libitum (lat.)</i> ; nach Belieben
ADF	Zahlenwert von den Gerüstsubstanzen (Zellulose und Lignin) der Futterprobenanalyse
ante partum, antepartal	vor der Geburt (<i>lat.</i>)
Appl.	Applikation
ATP	Adenosintriphosphat
AUC/AUCs	<i>Area under the curve (engl.)</i> ; Fläche unter der Kurve; Singular/Plural
Bone	Knochen (<i>engl.</i>)
bzw.	beziehungsweise
C	chemisches Symbol für Kohlenstoff
Ca	chemisches Symbol für Calcium
ca.	<i>circa (lat.)</i> ; ungefähr, etwa
Ca/P-ratio	Calcium/Phosphor-Quotient (<i>engl.</i>)
Ca ²⁺	ionisierte Form von Calcium, synonym für Ca _{ion}
Ca ²⁺ -ATPasen	Enzym, das Ca ²⁺ unter Verbrauch von ATP aus den Zellen bzw. ins Retikulum transportiert
CaBP	Calcium-Bindungsprotein
CaCl ₂	Calciumchlorid
CAD	<i>cation anion difference (engl.)</i>
Ca _{ion}	ionisiertes Calcium, synonym für Ca ²⁺
CaR/CaR's	<i>calcium sensing receptor (engl.)</i> ; Singular/Plural
Cathelicidin	antimikrobielle Polypeptid-Familie
Ca _{tot}	Gesamtcalcium
Cl	chemisches Symbol für Chlor
Cl ⁻	ionisierte Form von Chlor (Chlorid)
Corpora lutea	die Gelbkörper (<i>lat.</i>); (Plural)
CYP24	<i>(vitamin D-24-hydroxylase) - 25-hydroxyvitamin D</i>
Cytochrom-P450	Enzymfamilie der Monooxygenasen mit einem Absorptionsmaximum von 450 nm

Abkürzungen und Definitionen

d	<i>day (engl.)</i> ; Tag, Zeiteinheit
d.h.	das heißt
D _{28k}	in einem Wort benutzt für: 28 Kilo Dalton; Masseneinheit (1 Dalton = 1.66 x 10 ⁻²⁷ kg)
D _{9k}	in einem Wort benutzt für: 9 Kilo Dalton; Masseneinheit (1 Dalton = 1.66 x 10 ⁻²⁷ kg)
DBP	Vitamin-D-bindendes Protein
DCAB	<i>dietary catione anione balance (engl.)</i> ; Kationen-Anionen-Bilanz
Dislocatio abomasi	Labmagenverlagerung (<i>lat.</i>)
dl	Deziliter, Volumeneinheit (1x10 ⁻² l)
Down regulator	verringert die Rezeptorenmenge in einem bestimmten Bereich
Downer cow syndrome	nach der Geburt, oder z.T. auch schon vorher festliegende Kühe (<i>engl.</i>)
Dystokie	erschwerter Geburtsvorgang (<i>lat.</i>)
ebT	exklusive/ohne Hypocalcämie-behandelter Tiere
engl.	englisch
et al.	<i>et altera (lat.)</i> ; und andere
evtl.	eventuell
exkl.	exklusive, ohne
Fa.	Firma
FGF-23	<i>fibroblast growth factor 23 (engl.)</i>
g	Gramm, Masseneinheit (1x10 ⁻³ kg)
Gland	Drüse (<i>engl.</i>)
GPI	Gebärpareseinzidenz
Grp.	Gruppe
h	<i>hora (lat.)</i> ; Stunde, Zeiteinheit
i.m.	<i>intra muscularis (lat.)</i> ; in die Muskulatur hinein
i.v.	intravenös, in der Vene, in eine Vene
ibT	inklusive/einschließlich Hypocalcämie-behandelter Tiere
Inj.	Injektion
inkl.	inklusive
Intestine	Darm (<i>engl.</i>)
IU	<i>international units (engl.)</i> ; internationale Einheiten
K	chemisches Symbol für Kalium
K ⁺	ionisierte Form von Kalium
kg	Kilogramm, Masseneinheit (1x10 ³ g)
Kidney	Niere (<i>engl.</i>)
l	Liter, Volumeneinheit (1x10 ³ ml)
lat.	lateinisch
max.	maximal
ME	Umsetzbare Energie
meq	Milliäquivalent, Maßeinheit für die Angabe der DCAB
Mg	chemisches Symbol für Magnesium
mg	Milligramm, Masseneinheit (1x10 ⁻³ g)
Mg _{tot}	Gesamt magnesium
min.	Minimum
Mio.	Million, Mengeneinheit (1x10 ⁶)
ml	Milliliter, Volumeneinheit (1x10 ⁻³ l)
mm	Millimeter, Maßeinheit (1x10 ⁻³ m)
mmol	Millimol, Stoffmengeneinheit (1x10 ⁻³ mol)
mol	Mol, Stoffmengeneinheit (6,0221415x10 ²³ Teilchen)
mRNA	<i>messenger-RNA (engl.)</i>
MW	Mittelwert
Mycobacterium tuberculosis	Erreger der Tuberkulose (<i>lat.</i>)

n/a	<i>not available (engl.)</i> ; nicht verfügbar
Na	chemisches Symbol für Natrium
Na ⁺	ionisierte Form von Natrium
Na ₂ -EDTA	Dinatriumethyldiamintetraacetat
NCX1	<i>sodium-calcium-exchanger 1 (engl.)</i> .
NEL	Nettoenergielaktation
ng	Nanogramm, Masseneinheit (1x10 ⁻⁹ g)
nm	Nanometer, Maßeinheit (1x10 ⁻⁹ m)
O	chemisches Symbol für Sauerstoff
o.a.	oben angeführt, oben angegeben
OPG	Osteoprotegerin
P	chemisches Symbol für Phosphat
p.i.	<i>post injectionem (lat.)</i> ; nach der Injektion
p.p.	<i>post partum (lat.)</i> ; nach der Geburt
Paresis puerperalis	Gebärparese (<i>lat.</i>)
peripartal	während der Trächtigkeit, um die Geburt herum (<i>lat.</i>)
pg	Pikogramm (1x10 ⁻¹² g)
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
pH	negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration in mol/l
PMCA1b	<i>plasma-membrane-calcium-pump 1b (engl.)</i>
post injectionem	nach der Injektion (<i>lat.</i>)
post partum, postpartal	nach der Geburt (<i>lat.</i>)
PräproPTH	synthetisierte Vorstufe zur Bildung von PTH
Prävitamin D ₃	synthetisierte Vorstufe zur Bildung von Vitamin D ₃
Prolaps recti	Mastdarmvorfall (<i>lat.</i>)
Prolaps uteri	Gebärmuttervorfall (<i>lat.</i>)
ProPTH	synthetisierte Vorstufe zur Bildung von PTH
PTH	Parathormon
PTHrP	<i>parathyroid-hormone-related-peptid (engl.)</i>
RANK	<i>receptor activator of NF-κB (engl.)</i>
RANKL	<i>ligand of receptor activator of NF-κB (engl.)</i>
Remodeling	umgestalten (<i>engl.</i>)
Retentio secundinarium	Nachgeburtshaltung (<i>lat.</i>)
RNA/RNAs	<i>ribonuclein acid (engl.)</i> ; Singular/Plural
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
S	chemisches Symbol für Schwefel
s.c.	<i>sub cutan (lat.)</i> ; unter die Haut
second messenger	Zwei-Boten-Mechanismus (<i>engl.</i>)
SO ²⁻ /SO ₄ ²⁻	ionisierte Form von Schwefel
Steady state	das Erreichen eines konstanten Plasmaspiegels eines Wirkstoffs nach mehreren Gaben; Fließgleichgewicht
sunshine vitamin	Vitamin D-Form, aktiviert durch Sonneneinstrahlung auf die Haut (<i>engl.</i>)
Supp	Supplementierung
Tab.	Tabelle
TLR	<i>toll-like-receptor (engl.)</i>
TM	Trockenmasse
TMR	Totalmischung
TR	Totalration
TRPV5	<i>transient receptor potential channel, vanilloid subfamily member 5 (engl.)</i> ; früher auch ECaC1
TRPV6	<i>transient receptor potential channel, vanilloid subfamily member 6 (engl.)</i>
TS	Trockensubstanz

Abkürzungen und Definitionen

u.	und
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute; physikalische Größe für die Drehzahl (1/min oder Hertz)
UV	Ultraviolett
UV-B	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 290-320 nm
VDR/VDR's	<i>vitamin D-receptor (engl.)</i> ; Singular/Plural
VDRE	<i>vitamin D-response-element (engl.)</i>
Vgl.	vergleiche, Vergleich
Vit.	Vitamin
Vitamin D	Calciferol, antirachitischer Faktor
Vitamin D ₂	Ergocalciferol
Vitamin D ₃	Cholecalciferol
Wdh.	Wiederholung
wöchentl.	wöchentlich
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
ZP	Zeitpunkt

α	griechischer Buchstabe <i>alpha</i>
κ	griechischer Buchstabe <i>kappa</i>
μ	griechischer Buchstabe <i>my</i> , Präfix für Mikro- (1x10 ⁻⁶)

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferiol, Calcitriol, Vitamin D-Hormon
1α-Hydroxylase	hydrolytisches Enzym zur Umwandlung von Vitamin D
23-Hydroxylase	hydrolytisches Enzym
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-Dihydroxycholecalciferiol
24-F-1,25(OH) ₂ D ₃	24-Fluoro-1,25-Dihydroxycholecalciferiol
24-Hydroxylase	hydrolytisches Enzym
25(OH)D ₃	25-Hydroxycholecalciferol, Calcidiol
25-Hydroxylase	hydrolytisches Enzym

1. EINLEITUNG

Der nationale und internationale Wettbewerb in der Milchproduktion erfordert Leistungssteigerungen. Auch die Milchwirtschaft in Deutschland kann sich dieser Entwicklung nicht entziehen. So ist in den letzten 50 Jahren z.B. die jährliche Milchleistung einer durchschnittlichen Milchkuh in Niedersachsen von 4.400 l auf durchschnittlich 8.000 l gesteigert worden. Im Vergleich dazu ist jedoch die Laktationszahl von 4,45/Tier auf 2,5/Tier abgesunken. Demzufolge produzierte eine Milchkuh im Zeitraum von 1958 - 1967 in 4,45 Laktationen 19.567 l Milch und somit annähernd die gleiche Menge wie eine Milchkuh zwischen 1998 - 2007 in 2,5 Laktationen mit 20.000 l Milch (Frerking, 1999; Brade, 2005). Aus diesen Daten wird ersichtlich, dass die Rinderzucht in den letzten 50 Jahren nur bedingt Fortschritte gemacht hat. Trotzdem werden weiterhin große Anstrengungen in der Forschung für einen optimalen Zuchtfortschritt betrieben, um leistungsfähigere Tiere hervorzubringen. Dass dieses Streben nach immer höheren Leistungen nicht ohne Folgen für die Gesundheit der Tiere bleibt, wird durch die o.a. Studien bezüglich sinkender Laktationszahlen eindeutig belegt.

Zu den häufigsten Produktionserkrankungen in der Milchviehwirtschaft zählt man die Gebärpärese. Hierbei handelt es sich um eine *peripartale* Erkrankung mit subklinisch oder klinisch hypocalcämischem Verlauf (Gebärpärese, Milchfieber). Die generelle Ursache und somit die Pathogenese dieser Erkrankung ist bekannt. Es handelt sich um den erhöhten Calcium-Bedarf mit dem Einsetzen der Laktation, der zu einer Hypocalcämie führt, die wiederum durch eine Reihe von Cofaktoren wie z.B. hohem Calciumgehalt oder eine positive DCAB (Kationen-Anionen-Bilanz) beeinflusst werden kann.

Aufgrund der großen ökonomischen Bedeutung der Gebärpärese sind bisher zahlreiche Untersuchungen durchgeführt worden, um eine geeignete Prophylaxe zur Vermeidung dieser Erkrankung zu entwickeln. Eine Option ist die Supplementation mit Vitamin D oder Metaboliten von Vitamin D, die für die Regulation des Calciumstoffwechsels von entscheidender Bedeutung sind und die renale Reabsorption von Calcium, die intestinale Calciumabsorption und die Calciummobilisierung aus dem Knochen beeinflussen. Der theoretischen und bei der Prophylaxe der Gebärpärese gewünschten Wirkung von Vitamin D bzw. dessen Metaboliten steht die praktische Erfahrung gegenüber, dass der prophylaktische Effekt nur in einem begrenzten Zeitraum nach der Applikation erzielt wird. Erfolgt die Geburt nicht in diesem Zeitraum, versagt diese Prophylaxe.

Einleitung

Die vorliegende Studie basiert auf der Hypothese, dass mithilfe einer oralen Supplementation von 25(OH)D₃ der *peripartale* Abfall der Calcium-Konzentration im Plasma verringert werden kann. In den durchgeführten Versuchen sollte daher getestet werden, ob dieser positive Effekt auf den Calcium-Haushalt durch den Einsatz unterschiedlicher Dosierungen von 25(OH)D₃ und durch eine unterschiedliche Supplementationdauer von 21- bzw. 7 Tagen optimiert werden kann.

2. LITERATURTEIL

In den folgenden Kapiteln werden Aspekte der Calcium-Homöostase, des Vitamin D-Stoffwechsels, der Supplementierung mit Vitamin D und der Gebärpause angesprochen. Detaillierte Erklärungen zu diesen Themenkomplexen sind bereits in einer vorangegangenen Dissertation von *Kosmol* (2007) ausführlich dargestellt worden (Kosmol, 2007).

2.1 Regulation des Calciumhaushaltes

Calcium (Ca) ist für jedes Lebewesen ein essentieller Mineralstoff mit extra- und vor allem intrazellulären Funktionen in verschiedenen Organen und Zellen des Körpers (z.B. Nieren, Darm, Plazenta, Milchdrüsen, Muskulatur, Nervengewebe) (Hoenderop *et al.*, 2005). Ca ist an zahlreichen physiologischen Prozessen beteiligt, wie z.B. am Knochenaufbau, der Blutgerinnung, an der Freisetzung von Transmittern in Synapsen, bei der elektro-mechanischen Koppelung der Muskelkontraktion, der Stabilisierung des Ruhemembranpotentials und es reguliert als *second messenger* die Funktionen vieler Hormone und Wachstumsfaktoren (Horst *et al.*, 2005). Die Vielfalt der Funktionen und die Toxizität von Hypercalcämien erfordern eine abgestimmte Regulation des Ca-Haushalts (siehe Schema Abb. 1).

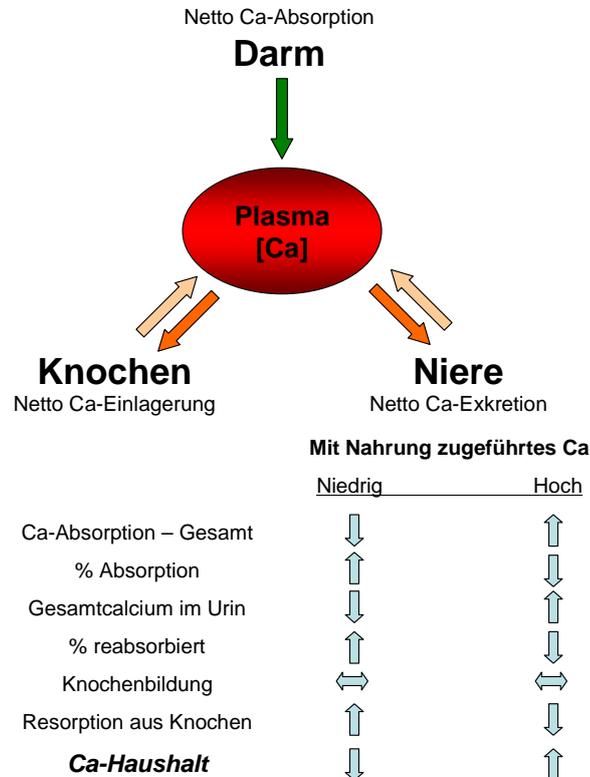


Abb. 1: Schematische Darstellung der Regulation des Calcium-Haushalts durch ein 3-Wege-System (nach (Fleet, 2006))

Für die allgemein üblichen Schwankungen des Ca-Bedarfs reichen eine vermehrte Ca-Aufnahme aus dem Verdauungstrakt und die Freisetzung von Calcium aus dem Skelettknochen aus, um mögliche Abweichungen des täglichen Bedarfs auszugleichen. Bei nicht adäquater Calciumversorgung der Tiere wird der Mangel zusätzlich durch eine erhöhte Calciummobilisation aus dem Knochen (Resorption) kompensiert (Abb. 1).

Im Verlauf der Trächtigkeit hat die Kuh einen zunehmend steigenden Bedarf an Calcium, der im letzten Monat der Trächtigkeit 8 g/d für das Kalb beträgt (Becker, 1974; Ernährungsphysiologie, 1978). Die notwendige Menge zur Erhaltung dieses Ca-Bedarfs wird mit dem Futter aufgenommen und die langsame Steigerung des Bedarfs während der Trächtigkeit kann durch die an der Regulation des Ca-Haushalts beteiligten Mechanismen aufgefangen werden. An dieser Regulation entscheidend beteiligt sind das Parathormon (PTH), Calcitonin sowie Metabolite des Vitamin D₃ (Bringhurst und Kronenberg, 1998).

Zum Kalbezeitpunkt werden große Mengen an Calcium für die Kolostrumbildung benötigt, die den extrazellulären Ca-Pool während der Hochträchtigkeit um den Faktor acht bis zehn übersteigen (Abb. 6). Das bedeutet, dass vermehrt große Mengen Calcium (30 - 35 %) aus dem Verdauungstrakt resorbiert oder aus dem Knochen mobilisiert werden müssen. Dieser hohe Ca-Bedarf für die Kolostralmilchbildung und vor allem die damit verbundene rasche Steigerung des Ca-Bedarfs überfordert die genannten Regulationsmechanismen, sodass eine Hypocalcämie eintritt.

Diese verzögerte Adaptation der Regulation des Ca-Haushalts wird verständlich, wenn man sich die Kaskade der Reaktionsschritte zur Regulation des Ca-Haushalts verdeutlicht.

2.1.1 Calcium-sensitiver Rezeptor (CaR)

Der Calcium-sensitive Rezeptor ist ein 7 - transmembraner Rezeptor, der in vielen Zellen des Körpers vorkommt. Dem CaR kommt eine Schlüsselrolle in der Erhaltung einer konstanten extrazellulären (ionisierten) Calciumkonzentration zu. In der Nebenschilddrüse regulieren die Calcium-sensitiven Rezeptoren (CaR's) sowohl die Synthese und Sekretion, als auch die Genexpression von PTH sowie das Zellwachstum. Die wohl wichtigste Funktion der Calcium-sensitiven Rezeptoren innerhalb der Ca-Homöostase ist die CaR-abhängige Beeinflussung dieser drei Funktionen in der Nebenschilddrüse. All diese Eigenschaften werden bei hohen Ca²⁺-Konzentrationen (ionisiertes Ca) gehemmt und bei niedrigen Ca²⁺-Konzentrationen stimuliert und führen dann zu entsprechender Freisetzung von PTH, sodass eine Ca²⁺-Konzentration zwischen 1.1 - 1.3 mmol/l (ionisiert) aufrechterhalten wird (Brown *et al.*, 1993).

2.1.2 Parathormon (PTH)

PTH, auch Parathyrin genannt, ist ein von den Hauptzellen der Nebenschilddrüse aus den Vorstufen PräproPTH und ProPTH gebildetes Polypeptidhormon, bestehend aus einer linearen Kette von 84 Aminosäuren (Wiesner und Ribbeck, 2000). Klassische Studien über den Calciummangel haben gezeigt, dass der Vitamin D-Metabolit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und PTH für die Hauptregulationsmechanismen der Ca-Homöostase verantwortlich sind (Abb. 2 und Abb. 3) (Nijenhuis *et al.*, 2005). Durch PTH wird hauptsächlich die Serumkonzentration von Calcium und Phosphor reguliert. Die PTH-Sekretion selbst wird in der Nebenschilddrüse über einen negativen Feedback-Mechanismus, an dem PTH, Calcium und Magnesium beteiligt sind, gesteuert (Canalis *et al.*, 1989; Hock und Fonseca, 1990). Bei der Regulation entscheidend ist die Ca^{2+} -Konzentration der extrazellulären Flüssigkeit, die durch den CaR in der Membran der PTH-sezernierenden Zellen der Nebenschilddrüse gemessen wird (Brown, 1991). Eine hohe Calciumkonzentration im Blut hemmt, eine niedrige fördert die PTH-Sekretion. Das Verhalten von PTH bei Ca-Unterversorgung (Hypocalcämie) ist in Abb. 2 dargestellt.

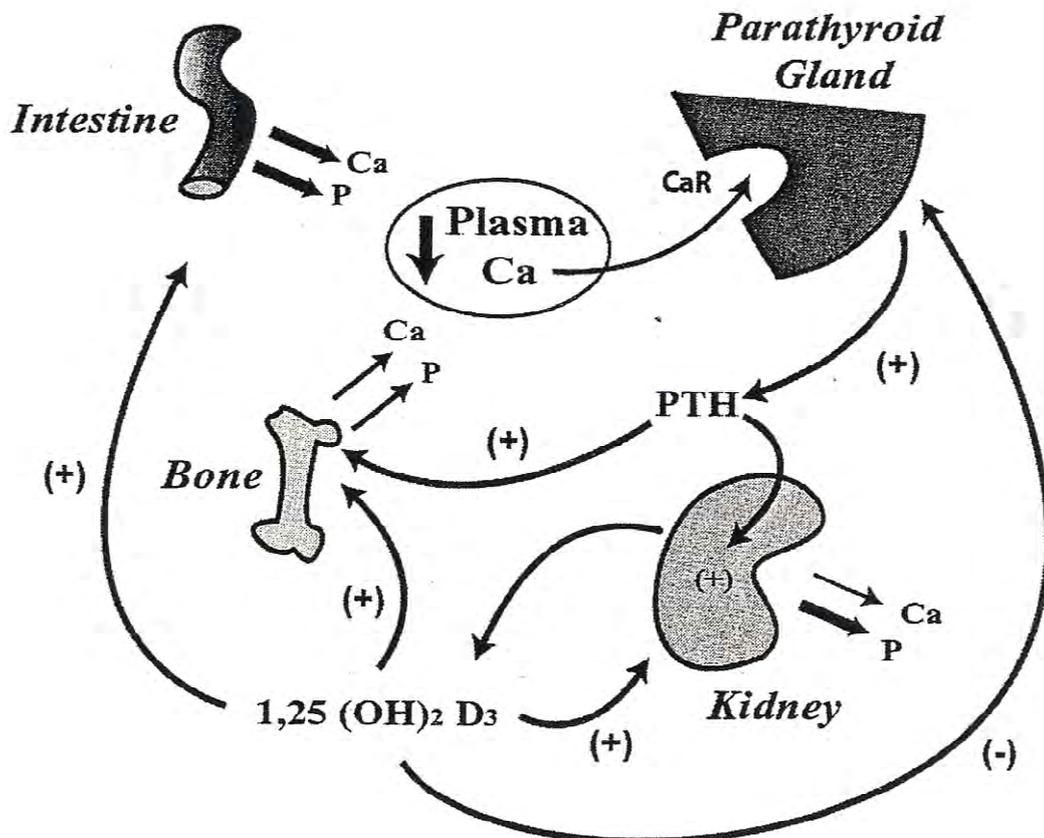


Abb. 2: Verhalten von PTH bei Ca-Unterversorgung (nach (Fleet, 2006)). Ein Abfall des ionisierten Calciums verursacht eine vermehrte Freisetzung von PTH und damit eine Aktivierung der PTH-abhängigen Regulationsschritte in Niere und Knochen.

Bei Hypocalcämie erfolgt eine Erhöhung der PTH-Sekretion innerhalb weniger Sekunden. Die CaR's nehmen die niedrigen Calciumkonzentrationen im Blut wahr und initiieren sofort eine erhöhte Freisetzung von PTH aus den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse. Innerhalb von wenigen Minuten erhöht PTH die renale Reabsorption von Calcium (Horst *et al.*, 1997) und die Ausscheidung von Phosphat mit dem Harn (Brown, 1991; Nijenhuis *et al.*, 2005). In hohen Konzentrationen übt PTH auch einen katabolen Effekt durch Stimulation der Osteoklastenaktivität auf das Skelett aus (Osteoklasten und Stromazellen des Knochens besitzen *PTH/PTHrP-Rezeptoren*) und fördert somit die Calciumfreisetzung aus dem Knochen (Abb. 3) (Taylor *et al.*, 2008).

PTH ist ferner ein stark stimulierender Regulator der 25(OH)D₃-1α-Hydroxylase-Aktivität in der Niere. Liegt die Ca-Konzentration < 0.56 mmol/l (Horst *et al.*, 2003), wird durch die Nebenschilddrüsen vermehrt PTH ausgeschüttet und die 25(OH)D₃-1α-Hydroxylase-Aktivität gesteigert (Taylor *et al.*, 2008). Die Folge ist eine vermehrte Bildung von 1,25(OH)₂D₃ (Engstrom *et al.*, 1987), der aktiven Form von Vitamin D (Brown, 1991). Ist hingegen die Ca-Konzentration > 0.56 mmol/l, wird die PTH-Ausschüttung reduziert (Horst *et al.*, 2003). Die schnelle Inaktivierung von 1,25(OH)₂D₃ erfolgt durch eine weitere Hydroxylierung am Atom 24 in Leber und Niere (Wiesner und Ribbeck, 2000).

Durch PTH werden Nieren und Knochen direkt, der Darm durch 1,25(OH)₂D₃ indirekt beeinflusst und dadurch der Calcium-Spiegel im Blut auf unterschiedliche Weise nach einer Verringerung heraufgesetzt. Bei hohem Ca-Abfluss aus dem extrazellulären Pool wird durch eine kontinuierliche PTH-Sekretion die Resorption aus dem Knochen stimuliert. Bei unzureichender Ca-Versorgung (geringe Ca-Aufnahme/erhöhter Bedarf) wird somit hauptsächlich das Skelettsystem als Calciumspeicher für die Mobilisierung der benötigten Ca-Menge im Körper herangezogen (Horst *et al.*, 1997).

Der Einfluss von PTH auf den Darm basiert auf einer Stimulierung der renalen 1α-Hydroxylase-Genexpression und Hemmung der 24-Hydroxylase (CYP24) mRNA-Bildung, wodurch in der Niere verstärkt 1,25(OH)₂D₃ gebildet und die Ca-Resorption aus dem Darm positiv beeinflusst wird (Armbrecht *et al.*, 2003; Zierold *et al.*, 2003; Fleet, 2006). Vitamin D-Mangel verursacht in der Niere eine Erhöhung der 25(OH)D₃-1α-Hydroxylase-Aktivität sowie eine Herabsetzung der 24- und 23-Hydroxylase-Aktivität. Resultierend aus einer verbesserten renalen Synthese während der finalen Trächtigkeits- und beginnenden Laktationsphase ist der 1,25(OH)₂D₃ – Spiegel bei den meisten Tierarten 2 - 3-mal höher als üblich (Halloran *et al.*, 1979; Kumar *et al.*, 1979; Horst *et al.*, 2003). In der Früh-laktation der Kuh kann sogar ein Anstieg auf das zehnfache beobachtet werden (Horst *et al.*, 1977).

Die allgemein primär an Versuchstieren erarbeiteten Erkenntnisse über die Regulation des Ca-Haushalts treffen auch für die Kuh zu. So ist bekannt, dass die PTH-Konzentration bei an Gebärparese erkrankten Kühen gleich hoch oder höher ist, als bei gesunden Kühen. Im

Zusammenhang damit kann PTH u.U. als so genannter „*Down-Regulator*“ auf die Bildung von Vitamin D-Rezeptoren im Darm und in der Niere wirken. Der resultierende Rückgang in der Ausbildung von Ca-Rezeptoren und die damit verbundene Abnahme der Calciumresorption könnte ein möglicher auslösender Faktor für das Vorkommen der Gebärpause sein (Goff *et al.*, 1991b).

2.1.3 Calcitonin

Calcitonin ist ein Peptidhormon, das in den parafollikulären C-Zellen der Schilddrüse und z.T. in der Nebenschilddrüse produziert wird. Es ist der wichtigste Antagonist von PTH. Durch hohe Ca^{2+} -Konzentrationen wird die Sekretion von Calcitonin stimuliert (Schwarz *et al.*, 1993; Ho *et al.*, 1995). Dieser Prozess wird wie bei PTH durch CaR's reguliert (Fudge und Kovacs, 2004). Wichtigste Funktionen sind die Hemmung der durch PTH stimulierten Knochenresorption, Hemmung des Kollagenabbaus und der enteralen Calciumabsorption sowie Reduzierung der Futteraufnahme (Wiesner und Ribbeck, 2000). Calcitonin verhindert Hypercalcämien durch erhöhten Einbau von Calcium in die Knochensubstanz und verstärkter renaler Exkretion von Calcium durch Hemmung der tubulären Ca-Reabsorption, wodurch der extrazelluläre Calciumspiegel gesenkt wird (Warshawsky *et al.*, 1980). Ferner wird durch Calcitonin die renale Phosphat – Ausscheidung erhöht. Calcitonin-Injektionen verhindern bei Rindern eine zuvor durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Injektionen induzierte Hypercalcämie (Barlet, 1980). Die Rolle von Calcitonin bei der Pathogenese der Gebärpause ist nicht genau untersucht, wahrscheinlich jedoch eher unbedeutend.

2.2 Vitamin D-Haushalt und Regulation

Im Körper existieren zwei Formen von Vitamin D: Vitamin D_3 (Cholecalciferol) und Vitamin D_2 (Ergocalciferol). In beiden Fällen muss das Vitamin D erst metabolisch umgewandelt werden, um an den Vitamin D-Rezeptor (VDR) anbinden und seine biologischen Effekte entfalten zu können (Abb. 3) (Rowling *et al.*, 2007). Vitamin D_2 entsteht durch UV-Bestrahlung von pflanzlichen Futtermitteln wie Heu oder Futterhefe (Holick, 2007) und kann auch in Form von kommerziell erhältlichen kristallinen Strukturen durch die Einmischung in die Ration mit der Nahrungsaufnahme in den Stoffwechsel des Körpers gelangen (Horst und Reinhardt, 1983). Das so genannte „*sunshine vitamin*“ (Vitamin D_3) hingegen kann durch UV-B-Bestrahlung der Haut durch die so herbeigeführte Aktivierung seiner im Körper hergestellten Vorstufe (7 - Dehydrocholesterol) photochemisch aus Lanolin synthetisiert werden (Abb. 3) (Fleet, 2006; Holick, 2007). Durch diese UV-B-Bestrahlung kann der Körper 7-Dehydrocholesterol (Abbauprodukt von Cholesterin) photochemisch in Prävitamin D_3 (Vorstufe von Vitamin D_3) umwandeln. Da Prävitamin D_3 jedoch thermodynamisch instabil ist und in dieser Form

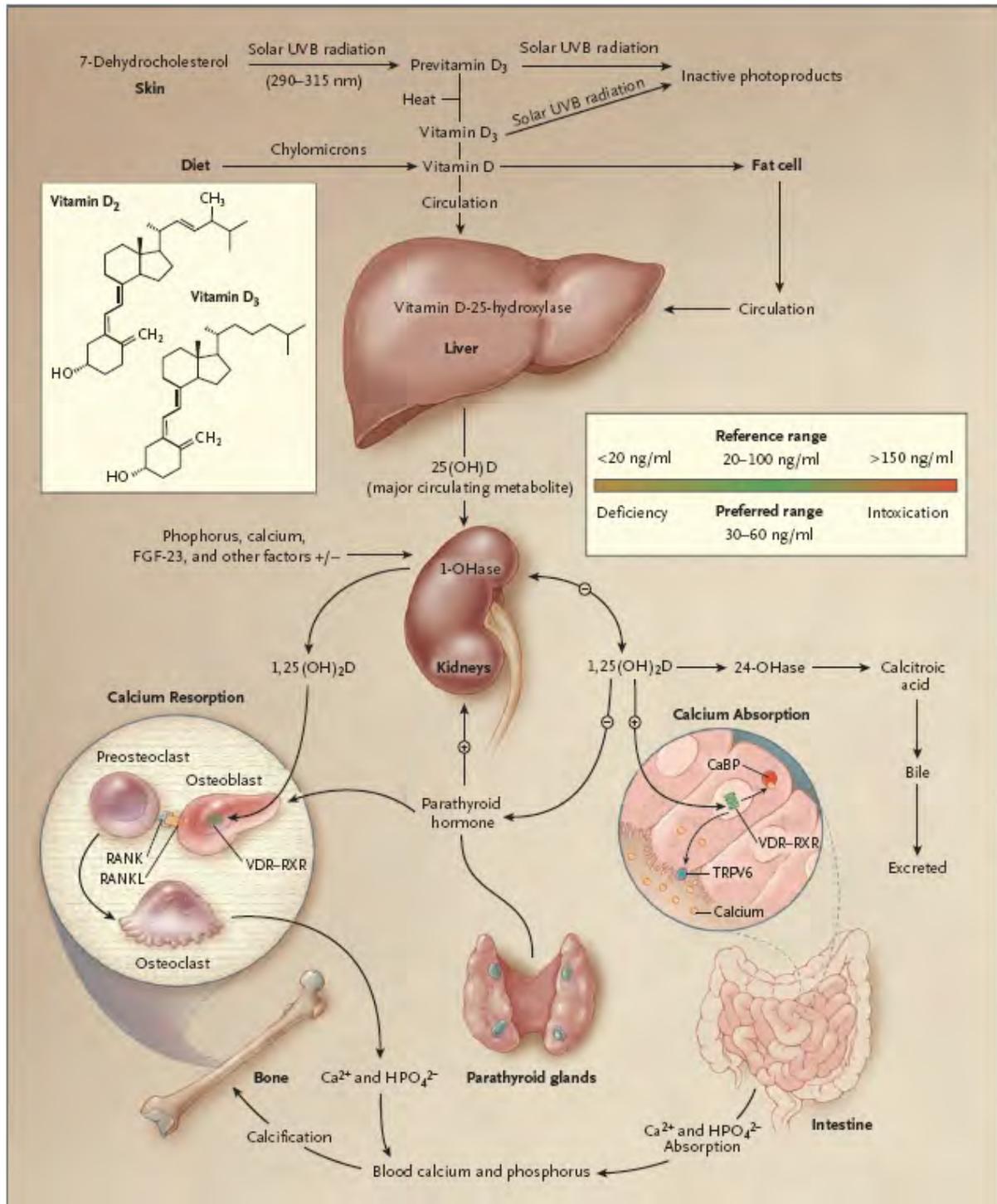


Abb. 3: Die synthetischen und metabolischen Einflüsse von Vitamin D auf die Regulation des Ca²⁺-, Phosphat- und Knochenstoffwechsels (nach (Holick, 2007))

keinerlei Funktionen erfüllen kann, ist ein sofortiger temperaturabhängiger Umbau zu Vitamin D₃ nötig (Abb. 3). Dazu wird das aus der Haut oder mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D (oder dessen Metaboliten) ins Blut abgegeben, wo es anschließend gebunden an Vitamin-D-Bindende Proteine (DBP) oder Albumine zu seinen Zielorten (Leber, Fettgewebe) transportiert und gespeichert wird (White und Cooke, 2000; Holick, 2007).

Bis heute ist jedoch nicht abschließend geklärt, wie das Vitamin D aus dem Blut ins Gewebe bzw. in die Zellen gelangt. In den Hepatozyten der Leber wird an der C-25-Position mithilfe einer 25-Hydroxylase (hydrolytisches Enzym) eine Hydroxylgruppe an das Prävitamin D₃ eingefügt, welches über einen sigmatropen Shift eines Protons zu 25-Hydroxycholecalciferol [Calcidiol; 25(OH)D₃] umgebaut wird (Engstrom *et al.*, 1986; Engstrom *et al.*, 1987; Horst *et al.*, 2003). Das so gebildete 25-Hydroxycholecalciferol zirkuliert nun im Blutkreislauf, ist aber immer noch biologisch inaktiv. Dabei handelt es sich um eine sehr stabile Vitamin D-Form, die auch bei der Blutanalyse als funktioneller Parameter für die Vitamin D-Versorgung im Körper herangezogen wird (Holick, 2007). Mittels Transportproteinen wird das in der Leber gebildete Calcidiol [25(OH)D₃] zu den Nieren transportiert, wo es anschließend in den Tubuluszellen an der C-1-Position mithilfe der 1 α -Hydroxylase (einem mitochondrialen Cytochrom-P450-Enzym, das auch als CYP27B1 bezeichnet wird) (Holick, 2007) zu 1,25-Dihydroxycholecalciferol [Calcitriol; 1,25(OH)₂D₃], dem so genannten aktiven Vitamin D₃, hydroxyliert wird. Vitamin D₃ stellt den aktivierenden Liganden für den Vitamin D-Rezeptor dar (Abb. 3) (Cheng *et al.*, 2003; Rowling *et al.*, 2007). Die renale Synthese von 1,25(OH)₂D₃ kann dabei durch PTH, Ca²⁺, Phosphat (P) und FGF-23¹ gesteigert oder gesenkt werden (Holick, 2007). Durch die erneute Hydroxylierung entsteht auf diese Weise nun die hormonell aktive Form des Vitamin D, die als aktives Vitamin D₃ ins Blut abgegeben wird und so im Körper wirksam werden kann. Die renale Synthese von 1,25(OH)₂D₃ sowie die Freisetzung von PTH können durch 1,25(OH)₂D₃ selbst über einen negativen Feedback-Mechanismus gehemmt werden (Abb. 2) (von Engelhardt und Breves, 2000; Holick, 2007).

Bei Rindern zirkuliert 1,25(OH)₂D₃ in 100-fach geringeren Konzentrationen (1 - 3 ng/ml) im Plasma als 25(OH)D₃ (DeLuca, 1981; Horst und Reinhardt, 1983; Horst, 1986; Horst *et al.*, 2003).

Während der Nierenfiltrationsphase werden die Vitamin D-DBP-Komplexe z.T. aktiv über Megalin-Membranrezeptoren reabsorbiert und in die Leber abgegeben (Lehste *et al.*, 2003; Fleet, 2006). 1,25(OH)₂D₃ besitzt in vielen Geweben des Körpers zahlreiche Möglichkeiten, die Gentranskriptionen mithilfe von cytosolischen Vitamin D-Rezeptoren (VDR's) zu steuern. Dazu diffundiert 1,25(OH)₂D₃ durch die Zellmembranen und bildet nach direkter Anbindung an einen VDR einen neuen Komplex mit einem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) (Abb. 3) (Horst *et al.*, 2003). Dieser Komplex lagert sich nun an ein *vitamin D-response-element* (VDRE) in der Regulatorregion der Zielgene an und veranlasst deren Expression (Freedman und Lemon, 1997; Horst *et al.*, 2003). Durch diese Interaktion aus VDR und RXR erhöht 1,25(OH)₂D₃ die intestinale Ca²⁺-Absorption im Dünndarm durch die Synthese von TRPV6-Kanälen (*transient-receptor-potential-channel, vanilloid-subfamily-member 6*) und des Ca-bindenden Proteins Calbindin_{9k} (Holick, 2007).

¹ Aus Knochen stammendes Phosphat-Hormon, das in den Nieren die Phosphatexkretion erhöht und die Biosynthese von Calcitriol absenkt

Bei der ossären Ca^{2+} -Resorption interagieren die Osteoblasten und Osteoklasten über das RANK/RANKL/OPG-System miteinander, um ein kontrolliertes Knochen-*Remodeling* zu gewährleisten (Abb. 3) (Fleet, 2006; Holick, 2007; Kosmol, 2007). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unterstützt damit die Osteoklasten im Abbau der Knochenmatrix, sodass vermehrt Calcium freigesetzt werden kann (siehe Kosmol, 2007).

2.2.1 Autokrine/Parakrine Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Abgesehen von den bekannten Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bei der Regulation des Ca-Haushalts haben Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt, dass dieser Metabolit viele Zellfunktionen unabhängig von den klassischen Reaktionskaskaden beeinflusst. Durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kann die Aktivität von mehr als 200 Genen in den verschiedensten Zelltypen des Körpers beeinflusst werden (Holick, 2007). Dazu gehören unter anderem Gene, die für die Regulation des Zellwachstums, Zelldifferenzierung, Apoptose und Angiogenese zuständig sind (Holick, 2007). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hat außerdem schützende Wirkung bei verschiedenen Krebsformen und wirkt entzündungshemmend.

Ferner ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auch ein potentieller Immunmodulator (Abb. 4). So werden Monozyten und Makrophagen über ihren TLR 2/1-Rezeptor (*toll-like-receptor*) von infektiösen Agenzien wie *Mycobacterium tuberculosis* oder dessen Lipopolysacchariden stimuliert. Die biologischen Effekte werden dabei über den VDR übermittelt (Mathieu und Adorini, 2002). Ein derartiger Reiz führt zur Absenkung der VDR- und 1α -Hydroxylase-Aktivität (Holick, 2007). Das wiederum senkt die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Produktion und führt zur verstärkten Cathelicidin-Synthese. Cathelicidin ist ein Peptid, was zur Zerstörung von *Mycobacterium tuberculosis* und zahlreich anderer infektiösen Agenzien in der Lage ist (Abb. 4) (Holick, 2007).

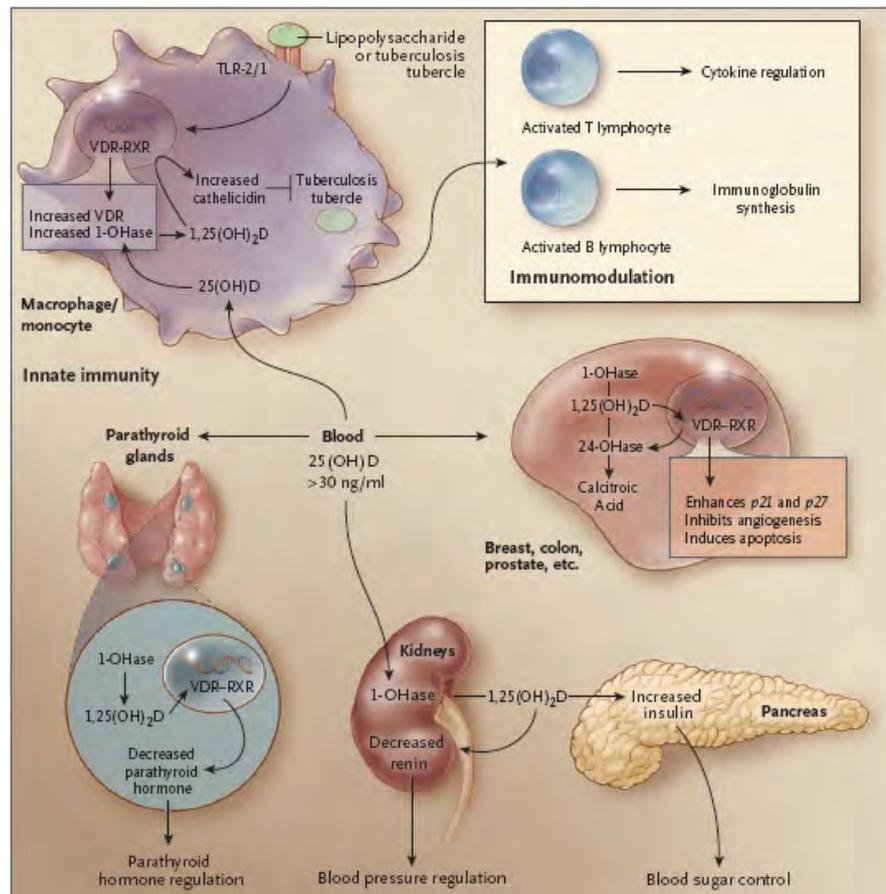


Abb. 4: Immunregulatorische Wirkung von Vitamin D auf *Mycobacterium tuberculosis* (nach (Holick, 2007)).

2.2.2 Vitamin D – Versorgung von Kühen

In der Regel ist die Vitamin D₃-Versorgung in der Nutztierhaltung durch photochemische Aktivierung nicht ausreichend, da die meisten Tiere in ganzjähriger Stallhaltung ohne Einwirkung von Tageslichteinstrahlung auf die Haut gehalten werden. Um den nötigen Bedarf zu decken, ist daher eine zusätzliche Vitamin D-Aufnahme über die Nahrung erforderlich. Rinder differenzieren dabei sehr stark zwischen oral aufgenommenen Dosen von Vitamin D₃ und Vitamin D₂. Horst *et al.* und Sommerfeldt *et al.* konnten nachweisen, dass dabei Vitamin D₃ eindeutig bevorzugt resorbiert wird (Horst und Reinhardt, 1983; Sommerfeldt *et al.*, 1983). Eine mögliche Ursache für die starke Differenzierung zwischen Vitamin D₃ und Vitamin D₂ beim Rind könnte in einer Bevorzugung von Vitamin D₂ durch die Pansenmikroben oder einer zu ineffizienten Darmabsorption liegen (Horst und Reinhardt, 1983). Bei jeglicher Supplementation von Vitamin D (D₂ oder D₃) beginnen die metabolischen Umbauprozesse bereits im Pansen des Wiederkäuers (Horst, 1986).

2.2.3 Östrogen

Östrogene sind Follikelhormone, die vor allem bei weiblichen Tieren in den Granulosazellen des reifenden Ovarfollikels, in der Plazenta und teilweise auch in den *Corpora lutea* gebildet werden. Dabei handelt es sich um Ring-A-ungesättigte Steroidhormone mit 18 C-Atomen, die unter Einwirkung von Cytochrom-P450-abhängigen Aromatasen aus Androgenen entstehen. Östrogene sind im Blut meistens an Plasmaeiweiße gebunden und können auch in den Nebennieren und Hoden synthetisiert werden (Wiesner und Ribbeck, 2000).

Östrogenmangel führt zu verstärktem Knochenabbau und erhöhten Knochensubstanzverlust. Das hat indirekt Auswirkungen auf die Calcium-Homöostase in Darm und Niere. Beim Menschen wird während der frühen Phase der Menopause infolge des drastischen Abfalls des Östrogenspiegels durch die massive Calciummobilisation aus dem Knochen der Calciumspiegel im Serum angehoben. Gleichzeitig werden dadurch der PTH-Spiegel und die renale Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gehemmt. Durch die abgesenkten PTH- und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentrationen reduziert Östrogen indirekt auch die Effektivität der intestinalen Calciumabsorption und renalen Calciumexkretion. Daraus resultiert wiederum eine erhöhte Calciumausscheidung über den Urin. Später, nachdem sich das System an den Verlust des Östrogens angepasst hat und sich der Knochenabbau verlangsamt hat, führt der Verlust der Calcium-Absorptionsleistungsfähigkeit wegen des Östrogen-Mangels, verbunden mit einer erhöhten renalen Calciumausscheidung, schließlich zu Hypocalcämie und verstärkter Nebenschilddrüsentätigkeit (Riggs *et al.*, 1998; Fleet, 2006).

2.3 Regulation des epithelialen Calciumtransports in Darm- und Nierenzellen durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Der transepitheliale Calciumtransport in Darm- und Nierenepithel kann zwischen den Zellen (parazellulär) und durch die Zellen (transzellulär) erfolgen (Abb. 5). Der parazelluläre Transport ist passiv und wahrscheinlich nicht reguliert. Der transzelluläre Transport ist ein aktiver Transportmechanismus (Kurosaki *et al.*, 2007) und erfolgt in drei Schritten.

Im ersten Schritt des transzellulären Transports erfolgt die Aufnahme von freiem Calcium durch die apikale Membran in die Epithelzelle mithilfe eines Calciumkanals (van de Graaf *et al.*, 2006). Zwei verwandte Kanäle vermitteln diesen Vorgang im Darm und in der Niere. Zum einen der TRPV6 im Darm und der TRPV6 und TRPV5 in der Niere (Peng *et al.*, 2003; van de Graaf *et al.*, 2006). TRPV5 und TRPV6 ermöglichen eine effektive Passage durch die apikale Membran, die aber schnell gehemmt wird, wenn die intrazelluläre Calcium-Konzentration ansteigt (Hoenderop *et al.*, 2001). Dabei wird TRPV6 schneller inaktiviert als TRPV5 (van de Graaf *et al.*, 2006). Eine Absenkung des extrazellulären pH-Werts (Azidose) kann auch die Effektivität von TRPV5 und TRPV6 hemmen (Nijenhuis *et al.*, 2005; van de Graaf *et al.*, 2006). Ca^{2+} wird im zweiten Schritt intrazellulär an das Ca-bindende Protein

Calbindin gebunden und durch die Zellen zur basolateralen Membran transportiert. Der Transport aus der Zelle durch die basolaterale Membran erfolgt schließlich mithilfe eines $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers (NCX1; *natrium-calcium-exchanger 1*) und der Ca^{2+} -ATPase (PMCA1b; *plasma-membrane-calcium-pump 1b*) (Abb. 5) (van Abel *et al.*, 2006).

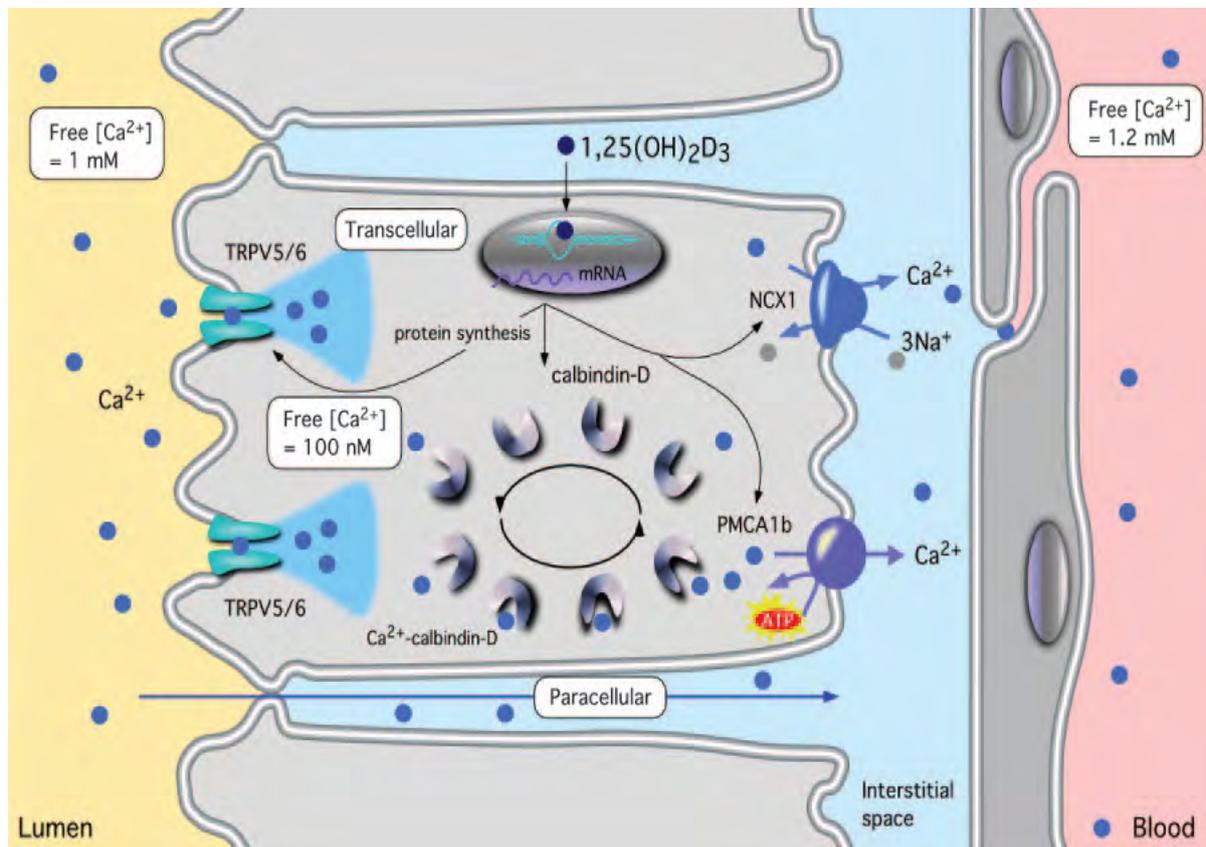


Abb. 5: Mechanismen des epithelialen Ca^{2+} -Transports durch das Darmepithel (nach (Hoenderop *et al.*, 2005)).

An der aktiven Ca^{2+} -Absorption in den Enterozyten beteiligt sind vor allem die TRPV6-Kanäle in den luminalen Membranen, Calbindin D_{9k} als Calciumbindungsprotein und PMCA1b auf der basolateralen Seite (van Abel *et al.*, 2006). TRPV5-Kanäle scheinen die Hauptisoformen in den Nieren zu sein, wohingegen TRPV6-Kanäle in Prostata, Magen, Gehirn, Lunge und Dünndarm jeweils am häufigsten vorzufinden sind (van Abel *et al.*, 2006). Calbindin D_{9k} (im Darm) und Calbindin D_{28k} (in der Niere) sind intrazelluläre Calciumbindungsproteine, die als intrazelluläre Puffer ein starkes Ansteigen der Ca^{2+} -Konzentration hemmen und somit zelluläre Reaktionen infolge des Ca^{2+} -Anstiegs verhindern. Diese Pufferwirkung des Calbindins verhindert unphysiologische Signalwirkungen nach calciumreichen Futteraufnahmen (Christakos *et al.*, 1989).

Die epithelialen Transportmechanismen von Ca^{2+} im Darm mittels TRPV5 und TRPV6, Calbindin D_{9k} und/oder PMCA1b werden alle durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguliert (Bronner *et al.*, 1986; Fleet *et al.*, 1994; Song *et al.*, 2003; Horst *et al.*, 2005).

Die Ca^{2+} -Absorptionsfähigkeit nimmt jedoch mit zunehmendem Alter durch verminderte Transportfähigkeit im Dünndarm, reduzierter renaler Tubulusfunktion und reduzierter Reaktion der Nieren auf PTH ab. Auch die renalen und intestinalen Calbindine, die beim aktiven Ca^{2+} -Transport eine wichtige Rolle spielen, verlieren mit zunehmendem Alter an Funktionsfähigkeit (van Abel *et al.*, 2006). Studien haben gezeigt, dass bei einer Abnahme der Ca^{2+} -Transportproteine eine verminderte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Sensibilität beobachtet werden kann (van Abel *et al.*, 2006). Ein weiteres Problem in Zusammenhang zwischen Alter und Gebärparese zeigt sich bei der Anzahl der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Rezeptoren. Goff *et al.* konnten nachweisen, dass diese beim Rind mit zunehmendem Alter im Darm abnehmen (Goff *et al.*, 1991b). Da viele Gensequenzen durch die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Rezeptoren gesteuert bzw. aktiviert werden, wie z.B. die Ca-Mobilisierung aus dem Knochen, sowie die intestinale Ca-Absorption wird klar, dass diese Funktionen im Alter mit abnehmender Rezeptorenzahl erheblich eingeschränkt werden und damit das Auftreten von Hypocalcämien bei Kühen begünstigen (Horst *et al.*, 1990). Die Rassen *Channel Island*, *Swedish Red* und *-White* sowie *Jerseys* sind im Gegensatz zu *Holstein-Friesian*-Kühen sogar noch gefährdeter (Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2005). Goff *et al.* und Horst *et al.* zeigten, dass *Jerseys* ~15% weniger intestinale VDR's besitzen als gleichaltrige *Holstein-Friesian*-Kühe (Goff *et al.*, 1995; Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2005).

2.4 Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bei hochträchtigen Kühen

Die überragende Bedeutung von Vitamin D_3 bzw. seiner Metaboliten bei der Regulation des Ca-Haushalts hat zu vielen Versuchen geführt, diese Substanzen zur Prophylaxe der Gebärparese zu nutzen. Dabei wurden hohe Dosen von Vitamin D_3 , $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder die aktive Form $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verabreicht. Bis heute gibt es jedoch hinsichtlich dieser Behandlungsmethoden sehr unterschiedliche und weiterhin unbefriedigende Ergebnisse, die in Tab. 1 und Tab. 2 dargestellt sind.

Das Hauptproblem beim prophylaktischen Einsatz von Vitamin D_3 oder dessen Metaboliten ist die Wahl des passenden Zeitpunkts der Supplementation, um im *peripartalen* Geburtszeitraum eine positive Wirkung auf den Calcium-Haushalt bewirken zu können. Es ist bekannt, dass eine durch $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ -Infusion verursachte Hypocalcämie beim Rind zwar sofort eine Sekretion von PTH induziert, ein signifikanter Anstieg von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jedoch erst 12 - 24 Stunden später beobachtet werden kann (Blum *et al.*, 1983). Ferner wurde in Untersuchungen mit Versuchstieren gezeigt, dass die Applikation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ erst nach 12 Stunden zu einer signifikanten Erhöhung der intestinalen Ca-Transportrate führt (Gast *et al.*, 1979; Horst *et al.*, 2003). Somit ergibt sich zwischen der Applikation von Vitamin D_3 bzw. dessen Metaboliten eine Latenzzeit von mindestens 36 - 48 Stunden. Bisherige Studien haben gezeigt, dass man mit Vitamin D-Präparaten 1 - 3 Tage *ante partum* die effektivsten

Wirkungen erzielt (Goff *et al.*, 1988). Dieser Zeitpunkt ist jedoch wegen der Unvorhersehbarkeit des Geburtszeitpunkts nicht immer genau zu treffen.

Ferner ergeben sich Schwierigkeiten dadurch, dass die durch die Applikation von Vitamin D bzw. dessen Metaboliten induzierte Hypercalcämie eine Kaskade von Gegenregulationsmechanismen auslöst (Hove und Kristiansen, 1984; Horst, 1986; Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2005), die eine Absenkung der renalen PTH-Sensivität verursachen (direkter Feedback-Mechanismus) (Harkness und Cromer, 2005; Ritter *et al.*, 2006) und in weiterer Folge eine Gebärparese begünstigen (Goff *et al.*, 1988; Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2003). In vielen dieser Fälle sind die behandelten Kühe dann nicht mehr in der Lage, endogenes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu bilden.

In der Tab. 1 und Tab. 2 sind die in diesem Zusammenhang durchgeführten Versuche und deren wesentliche Ergebnisse zusammengefasst.

Tab. 1: Versuchsbedingungen und Resultate zahlreicher Untersuchungen des Effekts einer 25(OH)D₃-Applikation auf die Gebärpareseinzidenz (GPI) des Milchrinds. Tab. 1 wurde aus der Dissertation von Kosmol übernommen (Kosmol, 2007).

	Versuchstiere Anzahl/Rasse Alter GPI der Herde	25(OH)D ₃ - Dosis Vehikel ZP d. 1. Appl. Wdh.-ZP	Fütterung	GPI
BRINGE et al. (1971)	n/a > 3. Laktation 100%	200 µg <i>i.v.</i> 1 ml Ethanol 24 h-3 d <i>a.p.</i> " keine Wdh.	n/a	Kontrolle: n/a Versuch: 0%
	22 <i>Holstein</i> n/a 50%	250 µg oral Ölkapsel 18 h <i>a.p.</i> " alle 3 d	n/a	Kontrolle: 72% Versuch: 45%
	35 <i>Jersey</i> n/a 50%	250 µg oral Ölkapsel 18 h <i>a.p.</i> " alle 3 d	n/a	Kontrolle: 63% Versuch: 36%
	n/a	1000 µg oral Ölkapsel 18 h <i>a.p.</i> " alle 3 d	n/a	Kontrolle: n/a Versuch: 18%
OLSON et al. (1973) ²	29 <i>Holstein</i> + 8 <i>Jersey</i> > 3. Laktation 100%	2 mg <i>s.c.</i> 5 ml Sesamöl < 48 h <i>a.p.</i> keine Wdh.	n/a	Kontrolle: 33% Versuch: 26%
	21 <i>Holstein</i> + 8 <i>Brown Swiss</i> > 2. Laktation 50%	4 mg <i>i.m.</i> 5 ml Sesamöl < 48 h <i>a.p.</i> keine Wdh.	Getreide, Ca- carbonat <i>ad lib.</i> , Grassilage Ca:P-ratio 5:1 [#] 15000 IU Vit D ₃ /d	Kontrolle: 33% Versuch: 10%*
	20 <i>Holstein</i> > 2. Laktation 50%	4 mg <i>i.m.</i> 5 ml Sesamöl < 48 h <i>a.p.</i> keine Wdh.	Grassilage, Maissilage, Maisschrot Ca:P-ratio 2-3:1 15000 IU Vit D ₃ /d	Kontrolle: 33% Versuch: 44%*

² zusätzliche Erläuterungen Seite 21

	Versuchstiere Anzahl/Rasse Alter GPI der Herde	25(OH)D ₃ - Dosis Vehikel ZP d. 1. Appl. Wdh.-ZP	Fütterung	GPI
OLSON et al. (1973)	16 <i>Holstein</i> n/a 30%	8 mg <i>i.m.</i> 5 ml Sesamöl < 48 h <i>a.p.</i> keine Wdh.	Grassilage, Maissilage, 36% Protein-Vitamin-u. Mineralgemisch Ca:P-ratio 2-3:1 15000 IU Vit D ₃ /d	Kontrolle: 25% Versuch: 13%*
	14 <i>Holstein</i> n/a 55%	8 mg <i>i.m.</i> 5 ml Sesamöl < 48 h <i>a.p.</i> keine Wdh.	Maissilage, Alfalfagrasheu, Getreidemix Ca:P-ratio 2,5:1 15000 IU Vit D ₃ /d	Kontrolle: 50% Versuch: 0%
FRANK et al. (1977) ³	571 + 260 + 374 + 359 <i>Holstein</i> u. <i>Jersey</i> > 3. Laktation n/a	0+2+4+8 mg <i>i.m.</i> Maisöl 5-11 d <i>a.p.</i> " alle 7 d, max. 3x	variabel	0 mg: 42% ⁺ 2 mg: 28% ⁺ 4 mg: 20% ⁺ 8 mg: 20% ⁺
JOERGENSEN et al. (1978) ⁴	94 <i>Holstein</i> > 3. Laktation n/a	4 + 8 mg <i>i.m.</i> 5 ml Sesamöl 2 d <i>a.p.</i> " n/a	Grassilage <i>ad lib.</i> 1,8 kg Getreide/d 210 g Ca; 42 g P Ca:P-ratio 2-3:1 15000 IU Vit D ₃ /d	Kontrolle: 29% Versuch: 16%*
	175 + 27 + 173 + 79 <i>Holstein</i> u. <i>Brown</i> <i>Swiss</i> > 3. Laktation n/a	0+2+4+8 mg <i>i.m.</i> 5 ml Maisöl 5 d <i>a.p.</i> " alle 7 d, max. 3x	variabel	0 mg: 43% ⁺ 2 mg: 15% ⁺ 4 mg: 10% ⁺ 8 mg: 6% ⁺

Legende zu Tabelle 1:

” vor dem errechneten Abkalbetermin

* kein Tier innerhalb 72 h bis 10 d *post injectionem*

führte zu höherer Gebärpareseinzidenz

+ geringere Inzidenz bei phosphatarmer Diät

◦ Tiere, die 72 h vor oder 10 d nach Injektion gekalbt hatten, wurden ausgeschlossen

³ zusätzliche Erläuterungen Seite 21

⁴ zusätzliche Erläuterungen Seite 21

Tab. 2: Versuchsbedingungen und Resultate bisheriger Untersuchungen des Effekts einer Vitamin D₂- oder Vitamin D₃-Applikation auf die Gebärparensinzidenz (GPI), den 1,25(OH)₂D₃-Spiegel und die Plasmacalciumkonzentration des Milchrinds.

	Versuchstiere Anzahl/Rasse Alter GPI der Herde	1,25(OH) ₂ D ₃ -Dosis Vehikel ZP der 1. Appl. Wdh.-ZP	Fütterung	1,25(OH) ₂ D ₃ - Konzentration (ng/ml)	Plasma-Ca _{tot} ⁶ Level (mg/dl)	GPI
HIBBS <i>et al.</i> (1976) ⁵	32 Jersey ≥ 5 Jahre 60%	32x10 ³ IU (Ergocalc.), oral, n/a Trockenstehperiode täglich	n/a	n/a	n/a	Kontrolle: 60% Versuch: 26,1%
JULIEN <i>et al.</i> (1976)	364 Holstein, Jersey, Guernsey, Ayrshire > 3. Laktation ca. 60%	10x10 ⁶ IU (Cholecalciferol) <i>i.m.</i> 5 ml Ethanol 7 d <i>a.p.</i> max. 3x	Maissilage, Grassilage, Krautfuttermix <u>Grp.1:</u> > 53% Ca + > 28% P der TM/TR <u>Grp.2:</u> < 47% Ca + > 28% P/kg TM/TR <u>Grp.3:</u> 47-53% Ca + 22-28% P/kg TM/TR	n/a	n/a	<u>Grp.1:</u> Kontrolle: 60% Versuch: 37,8% <u>Grp.2:</u> Kontrolle: 50% Versuch: 31,8% <u>Grp.3:</u> Kontrolle: 10% Versuch: 0%
HORST <i>et al.</i> (1979) ⁶	2 Jersey (4 Jahre alt) nicht laktierend nicht tragend n/a	15x10 ⁶ IU (Cholecalciferol) <i>i.m.</i> 1,5 ml Ethanol 1x wöchentl., max.4x	Alfalfagrasheu, 6 kg Getreide/d 50-60 g Ca, 25-30 g P Ca:P-ratio 2:1	Tag 0: 3,2 1. Inj.: 45 2. Inj.: 160 3. Inj.: < 250 4. Inj.: < 250	Tag 0: 9,0 1. Inj.: 9,0 2. Inj.: 11,5	n/a
	12 Holstein n/a > 30%	4 mg 16x10 ³ IU (Cholecalciferol) <i>i.m.</i> 5 ml Kornöl 5 d <i>a.p.</i> , alle 5 d	Alfalfagrassilage, 1,8 kg Getreide/d 200 g Ca, < 50 g P Ca:P-ratio 4:1 9000 IU Vit D ₃ /d	Tag 0: 0,09 24 h <i>p.i.</i> : 1,362 120 h <i>p.i.</i> : 0,143	Tag 0: 9,7 12 h <i>p.i.</i> : 10,6 24 h <i>p.i.</i> : 11,8 48 h <i>p.i.</i> : 11,7	Kontrolle: 33% Versuch: 0%

⁵ zusätzliche Erläuterungen Seite 21

⁶ zusätzliche Erläuterungen Seite 22

	Versuchstiere Anzahl/Rasse Alter GPI der Herde	1,25(OH) ₂ D ₃ -Dosis Vehikel ZP der 1. Appl. Wdh.-ZP	Fütterung	1,25(OH) ₂ D ₃ - Konzentration (ng/ml)	Plasma-Ca _{tot} ⁻ Level (mg/dl)	GPI
LITLEDIKE and HORST (1981)	6 Jersey nicht laktierend nicht tragend 100%	15x10 ⁶ IU (Cholecalciferol) <i>i.m.</i> 5 ml Ethanol 7 d <i>a.p.</i> , max. 3x	n/a	n/a	n/a	Kontrolle: 33% Versuch: 26%
LITLEDIKE and HORST (1982) ⁷	35 Jersey ≥ 2. Laktation 25-80%	15-20x10 ⁶ IU (Cholecalciferol) <i>i.m.</i> 1. Inj.: 5 ml Ethanol- Propylenglycol-Mix 32 d <i>a.p.</i> 2. Inj.: nach 7 d 2 ml 2,5x10 ⁶ IU	5 kg Maissilage/d, 5 kg Alfalfagrashheu/d, 2-4 kg Kraffutter/d, 80-90 g Ca, 30-40 g P Ca:P-ratio 2:1	Tag 0: n/a 24 h <i>p.p.</i> : Kontrolle: 0,225 Versuch: 0,187	Tag 0: n/a 24 h <i>p.p.</i> : Kontrolle: 5,5 Versuch: 8,8	Kontrolle: 25-85% (0% gestorben) Versuch: 0% (59% gestorben)
HOVE <i>et al.</i> (1982)	29 Norwegian Red Cows > 3. Laktation 85%	500 µg Vitamin D ₃ (Cholecalciferol) oral 2,5 µg/g Ethanol- Pellets-Mix 0 - 7 d <i>a.p.</i> , 2x	Grassilage, Heu, Kraffutter, Mineralfutter 3 Wo <u><i>a.p.</i></u> -10 d <u><i>p.p.</i></u> 100g Ca/d Ca:P-ratio - n/a	Kontrolle bei Geburt: 0,1 Grp. 1: n/a Grp. 2: 0,09 Grp. 3: n/a	Kontrolle bei Geburt: 31,5 Grp. 1: 30,6 Grp. 2: 42,9 Grp. 3: 34,2	Kontrolle: 0% <u>Grp. 1 (0-24 h <i>a.p.</i>)</u> : 25% <u>Grp. 2 (24-72 h <i>a.p.</i>)</u> : 0% <u>Grp. 3 (5-7 d <i>a.p.</i>)</u> : 0%

⁷ zusätzliche Erläuterungen Seite 21

Versuchstiere Anzahl/Rasse Alter GPI der Herde	1,25(OH) ₂ D ₃ -Dosis Vehikel ZP der 1. Appl. Wdh.-ZP	Fütterung	1,25(OH) ₂ D ₃ - Konzentration (ng/ml)	Plasma-Ca _{tot} ⁻ Level (mg/dl)	GPI
GOFF <i>et al.</i> (1988) 41 Jersey > 3. Laktation 85%	100 µg bzw. 150 µg 15x10 ⁶ IU (24-F-1,25(OH) ₂ D ₃) <i>i.m.</i> 5 ml Ethanol 5 d <i>a.p.</i> alle 7 d, max. 3x	Alfalfagrasheu <i>ad lib.</i> , 6 kg Getreide/d <u>normal</u> : 100-120 g Ca/d, 30-40 g P/d <u>2 Wo a.p.</u> - <u>2 Wo p.p.</u> : 140-170 g Ca/d, 75-80 g P/d Ca:P-ratio 3:1	<u>Kontrolle bzw.</u> <u>Versuch 100+150 µg</u> <u>(Mittelwerte x 10³)</u> : 48 h <i>a.p.</i> : 1,14 bzw. 0,85 <u>Geburt</u> : 1,12 bzw. 0,83 24 h <i>p.p.</i> : 1,17 bzw. 1,00 48 h <i>p.p.</i> : 1,48 bzw. 1,32	<u>Kontrolle</u> : Tag 0: 2,9-5,7 100 µg: Tag 0: 2,7-7,6 150 µg: Tag 0: 2,6-7,7	Kontrolle : 85% Versuch (100 µg): 43% Versuch (150 µg): 29%
YAMAGISHI <i>et al.</i> (2005) 20 Holstein > 2. Laktation n/a	1 µg/kg KGW (Cholecalciferol) + PGF _{2α} <i>i.m.</i> Ethanol 24 h-48 h <i>a.p.</i> keine	Heu, Grassilage, Maissilage, Kraffutter <u>Mineralstoffe bezogen</u> <u>auf TMR</u> : <u>a.p.</u> : 0,3% Ca/d, 0,2% P/d, <u>p.p.</u> : 0,8% Ca/d, 0,4% P/d, Ca:P-ratio 2:1	<u>Kontrolle</u> : 24 h <i>a.p.</i> : 0,054 0 h <i>p.p.</i> : 0,073 12 h <i>p.p.</i> : 0,075 <u>Versuch</u> : 24 h <i>a.p.</i> : 1,185 0 h <i>p.p.</i> : 0,597 12 h <i>p.p.</i> : 0,391	<u>Kontrolle</u> : 24 h <i>a.p.</i> : 9,4 0 h <i>p.p.</i> : 8,3 12 h <i>p.p.</i> : 8,6 <u>Versuch</u> : 24 h <i>a.p.</i> : 10,7 0 h <i>p.p.</i> : 10,8 12 h <i>p.p.</i> : 11,5	Kontrolle : 20% Versuch: 6,67%

Legende zu Tabelle Tab. 2

~ TM/TR – Prozentangabe bezogen auf die Trockenmasse der Gesamtration

Hibbs und *Pouden* (*Hibbs* und *Pouden*, 1955) berichteten bereits 1955, dass die parenterale tägliche Verabreichung von 5 - 30 Mio. IU Vitamin D₂, 3 Tage bis maximal 8 Tage *ante partum*, die Gebärpareseinzidenz senkte. Außerdem fanden sie heraus (*Hibbs* und *Conrad*, 1976), dass die Gebärpareseinzidenz bei Kühen mit einer Gebärparesevorgeschichte und Vitamin D-Fütterung (10x10⁶ IU Vitamin D₃ beginnend 2 - 3 Tage *ante partum*) (*Julien et al.*, 1977; *Horst et al.*, 1979a; *Littledike* und *Horst*, 1982) oder einer täglichen Verabreichung von Vitamin D₂ (32x10³ IU Vitamin D₂) während der Trockenstehperiode im Vergleich zu Kühen ohne Vitamin D-Fütterung signifikant verringert werden konnte (siehe Tab. 2). Im Gegensatz dazu zeigten Kühe ohne jegliche Gebärparesevorgeschichte keine großen Unterschiede nach Vitamin D-Fütterung gegenüber den Tieren ohne Vitamin D-Fütterung. Die Begründung dafür lag wohl darin, dass sich Kühe mit einer Gebärparesevorgeschichte bereits *ante partum* in einer negativen Ca-Bilanz bewegten, während Kühe ohne Gebärparesevorgeschichte zum gleichen Zeitpunkt eine positive Ca-Bilanz aufwiesen (*Hibbs* und *Conrad*, 1976).

Eine Verabreichung von 20 - 30 Mio. IU Vitamin D₂/d über maximal 7 Tage, beginnend 3 - 8 Tage *ante partum*, oder täglich 3x10⁴ IU Vitamin D₂ das ganze Jahr, reduzierte nachweislich die Gebärpareseinzidenz in einer Herde (*Hibbs* und *Pouden*, 1955; *Littledike* und *Horst*, 1982). Eine tägliche Verabreichung von 30 Mio. IU Vitamin D₂ beginnend 20 Tage *ante* bis einen Tag *post partum* führte hingegen schon zu einer extremen Vitamin D-Toxizität bei *Jersey*-Kühen (*Littledike* und *Horst*, 1982).

Eine Dosis von 15 - 20x10⁶ IU Vitamin D₃ für 32 Tage *ante partum* war extrem toxisch und führte zu hohen Mortalitätsraten (siehe Tab. 2) (*Littledike* und *Horst*, 1982).

Eine bewährte Methode heutzutage ist die intramuskuläre Verabreichung von 10 Mio. IU Vitamin D₃, 7 Tage vor dem errechneten Geburtszeitpunkt. Dabei tritt die gewünschte Wirkung bereits 24 h *post injectionem* ein und hält 4 - 6 Tage an. Wenn die Abkalbung sich länger hinauszögert, ist die Behandlung nach einer Woche zu wiederholen (*Staufenbiel*, 2004).

Olson et al. und *Horst et al.* (*Olson et al.*, 1973a; *Olson et al.*, 1974; *Horst et al.*, 2003) reduzierten das Gebärpareseaufkommen erfolgreich mit intramuskulären Injektionen von 4.0 - 8.0 mg 25(OH)D₃ (siehe Tab. 1). Bei Abkalbungen während eines Behandlungszeitraumes von < 3 Tage und > 10 Tage ergab jedoch die initiierte Wirkung von 25(OH)D₃ keinen Effekt zur Verhinderung einer Gebärparese. *Frank et al.* (*Frank*, 1977) empfehlen eine 4.0 mg-Dosis 25(OH)D₃, die 3 Tage *ante partum* und insgesamt maximal 3 Tage lang verabreicht wird (siehe Tab. 1) (*Horst et al.*, 2003).

Jorgensen und *Horst* (Tab. 1) berichteten, dass eine intramuskuläre Injektion von 4.0 mg oder 8.0 mg 25(OH)D₃, gemischt mit 5 ml Maisöl, die Inzidenz der Gebärparese deutlich verringerte. Dabei wurden die Kühe 5 Tage vor dem errechneten Geburtszeitpunkt und

anschließend in einem wöchentlichen Intervall bis zur Abkalbung mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ behandelt (Jorgensen, N. A. *et al.*, 1978), maximal jedoch dreimal.

Gast und Horst (Gast *et al.*, 1979; Horst *et al.*, 2003) stellten fest, dass intramuskuläre Injektionen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einen Anstieg des Plasma-Ca-Spiegels im Blut 12 h nach der Behandlung bewirkten. Außerdem konnten sie mit einer 5 - tägigen Behandlung mit $400 \mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, beginnend 5 Tage *ante partum*, die Gebärpareseinzidenz absenken (Tab. 2). Ähnliche Erfolge konnten Hoffsis *et al.* und Horst *et al.* (Hoffsis, 1979; Horst *et al.*, 2003) erzielen, die $600 \mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 24 h *a.p.* verabreichten und die Behandlung 2 - 3 Tage lang mit $270 \mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ fortsetzten.

Durch eine 5 - tägige Behandlung mit einer täglichen Dosis von $200 \mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ *a.p.* bis zur Abkalbung konnte das Milchfieberaufkommen unmittelbar nach der Abkalbung zwar gesenkt werden, es wurde aber gleichzeitig eine Hypocalcämie 9 - 13 d *p.p.* induziert (Engstrom *et al.*, 1987).

Obwohl in den aufgeführten Experimenten mit Vitamin D (D_2 oder D_3) oder seinen Metaboliten in der Regel positive Effekte auf den Ca-Haushalt und die Prävention der Gebärparese dokumentiert sind, hat sich keine der Anwendungen (Vitamin D oder Metabolite) in der Praxis durchgesetzt. Entscheidend für die ausgebliebene Anwendung ist:

- a) die Nichtvorhersehbarkeit des exakten Abkalbetermins und die damit verbundene Unsicherheit bezüglich des Applikationszeitpunkts und
- b) offensichtlich induzierte Gegenregulationsmechanismen.

So haben z.B. Goff *et al.* (2003) in einer Zusammenstellung gezeigt, dass *postpartal* der Calcitriolanstieg proportional zum Abfall der Blutcalciumkonzentration erfolgte. Dieser Anstieg blieb aus, wenn die Versuchstiere mit Vitamin D_3 oder dessen Metaboliten (siehe Tab. 1 und Tab. 2) zur Gebärpareseprophylaxe behandelt wurden, d.h. die physiologische Antwort auf einen Abfall der Blutcalciumkonzentration wie z.B. die Erhöhung der intestinalen Ca-Absorption blieb aus.

2.5 Gebärparese

2.5.1 Allgemeines

Zu den immer noch häufigsten Stoffwechselerkrankungen des Milchrindes gehört neben der Ketose die Gebärparese (Fürll *et al.*, 1996), die auch unter den Synonymen Milch- oder Kalbfieber, Hypocalcämie, *Paresis puerperalis* sowie puerperales Festliegen bekannt ist. Dabei handelt es sich nicht um eine Erkrankung, die mit Fieber einhergeht (Horst *et al.*, 2005), sondern um eine nicht-infektiöse, subakut bis akut verlaufende *peripartale* Störung im Mineralstoffwechsel, die vornehmlich 24 h *a.p.* - 48 h *p.p.* (Staufenbiel, 2004) bzw. 72 h *p.p.* auftritt (Allen und Sansom, 1985). Sie ist unmittelbar mit dem Einsetzen der Laktation verbunden und kann mit verschiedenen metabolischen Komplikationen wie Hypocalcämie, Hypophosphatämie, Hypermagnesämie, Hyperglykämie, Hyperkaliämie und Hypokaliämie einhergehen (Horst und Reinhardt, 1983; Goff, 2008).

2.5.2 Vorkommen

Weltweit herrscht eine Inzidenz von ca. 5 %, die jedoch in einigen Herden bis auf 20 % ansteigen kann (Kamphues, 1996). Die subklinische Gebärparese (Gesamtcalcium 1.38 - 2.0 mmol/l) ist bei älteren Kühen z.B. in den USA sogar in 50 % der Herden verbreitet (Goff, 2008). Somit gehört die Gebärparese zu den häufigsten (Horst, 1986) und wirtschaftlich relevantesten (Breves *et al.*, 1999) Erkrankungen des Milchrindes, da sie in der Milchproduktion, je nach Schwere der Erkrankung, Einbußen von 7 - 14 % mit sich bringen kann (Roche, 2003). Aufgrund ihres gehäuften Auftretens mit steigender Milchleistung wird sie in die Gruppe der Produktionskrankheiten eingeordnet (Staufenbiel, 2004).

2.5.3 Prädisponierende Faktoren

Die ätiologischen Hintergründe der Entstehung einer Gebärparese sind bekannt und unstrittig. Es handelt sich primär um Haltungs- und Fütterungsfehler, die in der Endphase der Laktation und während der Trockenstehphase initiiert werden (Staufenbiel, 1999).

So ist z.B. bekannt, dass das Gebärpareserisiko durch eine Ca-reiche Fütterung (> 100 g/d) in der Trockenstehphase erhöht wird (Jorgensen, N. A., 1974). Ein starkes Gebärpareseaufkommen zeigt sich ferner auch häufig in Betrieben mit überkonditionierten Kühen. Ein weiterer prädisponierender Faktor ist eine zu hohe P- (und Ca-) Versorgung (> 40 g P/Kuh/Tag; > 80 g Ca/Kuh/Tag) sowie ein hoher Anteil an alkalischen Futterkomponenten im letzten Drittel der Trockenstehperiode (van de Braak *et al.*, 1986; Fürll *et al.*, 1996; Staufenbiel, 2004). Hierbei handelt es sich primär um hohe Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Kombination mit hohen Ca-Konzentrationen, die vor allem durch

Gülledüngung bedingt sind (Block, 1984; Goff und Horst, 1997a; Staufenbiel, 2004). Im Vergleich dazu haben hohe Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Kombination mit niedrigen Ca-Konzentrationen keine derartig negativen Auswirkungen, da sie durch die bereits vorherrschenden Ca-Homöostase-Mechanismen ausgeglichen werden (Block, 1984). Studien von *Horst et al.* (Horst *et al.*, 1997) belegen, dass es auch rasseabhängige Unterschiede gibt. So sind *Jerseys* aufgrund einer geringeren Anzahl an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Rezeptoren anfälliger für Gebärparese als *Holstein-Friesian*-Kühe (Goff *et al.*, 1995). Eine geringere Anzahl an Rezeptoren hätte einen Sensitivitätsverlust für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Zielgewebe zu Folge. Die Anzahl der Rezeptoren nimmt auch mit zunehmendem Alter ab, sodass die Gebärparese vor allem ab dem 3. Laktationsstadium gehäuft auftritt (Curtis *et al.*, 1984; Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2005). Parallel dazu steigt die Milcheinsatzleistung mit zunehmendem Alter in der Regel an, was einen erhöhten Ca-Bedarf zur Folge hat. Ferner reduziert sich die Mobilisierungsfähigkeit von Ca aus dem Knochen mit zunehmenden Alter und die Transportrate aus dem Darm nimmt ab (Horst *et al.*, 2005). Eine weitere Möglichkeit ergibt sich aufgrund der herabgesetzten Sensibilität des PTH-Rezeptors (Reinhardt *et al.*, 1988; Horst *et al.*, 1994), die sich als Folge einer metabolischen Alkalose (Horst *et al.*, 1997; Goff, 2000) nach der Verfütterung kationenreicher Rationen ergibt (Goff und Horst, 1997a). Die mit einem alkalischen pH-Wert einhergehende Konfirmationsänderung des PTH-Rezeptors verringert die Reaktionsfähigkeit auf PTH in den entsprechenden Zielgeweben (Horst *et al.*, 1997).

2.5.4 Pathogenese

Die Entstehung der Gebärparese ist gekennzeichnet durch ein Ungleichgewicht zwischen der Ca-Aufnahme und der Ca-Abgabe aus dem extrazellulären Flüssigkeitsraum mit einsetzender Laktation (Abb. 6) (Horst, 1986). In den meisten Fällen kommt es trotz des verstärkten Ca-Abflusses aus dem Blut in die Milch jedoch nur zu einem geringen Abfall in der Blutcalciumkonzentration, ohne klinische Symptome. Häufig ergibt sich jedoch eine sehr schnelle und starke Verringerung der Blutcalciumkonzentrationen, resultierend aus dem hohen Calciumbedarf für die Kolostrumproduktion (Abb. 6), der durch Absorption aus dem Darm, Mobilisation aus dem Knochen und Resorption aus dem Primärharn (Horst *et al.*, 1997) nicht mehr kompensiert werden kann. Eine adäquate Ca-Versorgung für die Aufrechterhaltung der neuromuskulären Funktionen ist nicht mehr gewährleistet (Frank, 1977; Goff, 2006a), sodass klinische Symptome auftreten. Durch das Calciumdefizit kann ferner die glatte Muskulatur, die u.a. für die Motilität des Magen-Darm-Kanals und zum Schließen des Zitzenkanals notwendig ist, nicht mehr aktiviert werden (Goff, 2006a). Entwickelt sich eine mittel- bis hochgradige Hypocalcämie, reagieren die meisten Kühe mit vermehrter PTH-Sekretion, wodurch die Osteoklasten im Knochen zu einer erhöhten Ca-

Mobilisation angeregt werden (Abb. 2 und Abb. 3). In weiterer Folge wird auch die renale Ca-Reabsorption aus dem glomerulären Filtrat gesteigert und die renale Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimuliert, die für eine effiziente intestinale Ca-Absorption notwendig ist (Goff, 2006a). Kühe, die nicht in der Lage sind, diese Adaptationsmechanismen ausreichend schnell auszulösen, zeigen klinische Symptome bzw. das klassische Bild der Gebärpause. Bei einer hochgradigen Gebärpause kann der Abfall der Blutcalciumkonzentration so stark sein, dass es zum Tod des Tieres kommt, bevor die o.a. Adaptationsvorgänge wirksam werden können (Reinhardt *et al.*, 1988).

Die möglichen Veränderungen des Ca-Stoffwechsels im *peripartalen* Zeitraum lassen sich anschaulich verdeutlichen, wenn man sich die Zu- und Abflüsse von Ca aus dem Plasma- bzw. extrazellulären Pool vor Augen führt. Dieser Pool (intravasal und extrazellulär) beträgt etwa 10 g Ca (siehe Abb. 6). Unmittelbar vor der Abkalbung werden aus diesem Pool für das Kalb etwa 2 - 7 g Ca benötigt, über den Magen-Darm-Kanal werden 5 - 8 g Ca abgegeben und mit dem Harn weniger als 1 g Ca, d.h. dass der Ca-Pool von 10 g etwa 1 bis 1.5-mal pro Tag ersetzt werden muss durch entsprechende Absorption aus dem Verdauungstrakt oder durch Mobilisation aus dem Knochen (Abb. 6). Nach der Abkalbung sind bei einer Einsatzleistung von 20 l Milch etwa 40 g Ca für die Kolostralmilchbildung erforderlich, sodass es, unter Berücksichtigung der nicht mehr notwendigen Versorgung des Kalbes, zu einer Gesamtbelastung des intravasalen und extrazellulären Pools von insgesamt etwa 45-48 g Ca kommt (40 g Kolostralmilch + 8 g für Verluste über den Verdauungskanal und Urin). Der intravasale und extrazelluläre Pool muss daher unter diesen Bedingungen 4 - 5-mal pro Tag ersetzt werden. Es ist leicht zu erkennen, dass dieser Ca-Bedarf nicht allein durch sofortige Erhöhung der intestinalen Absorption gedeckt werden kann, sondern dass eine Mobilisation aus dem Knochen erforderlich ist.

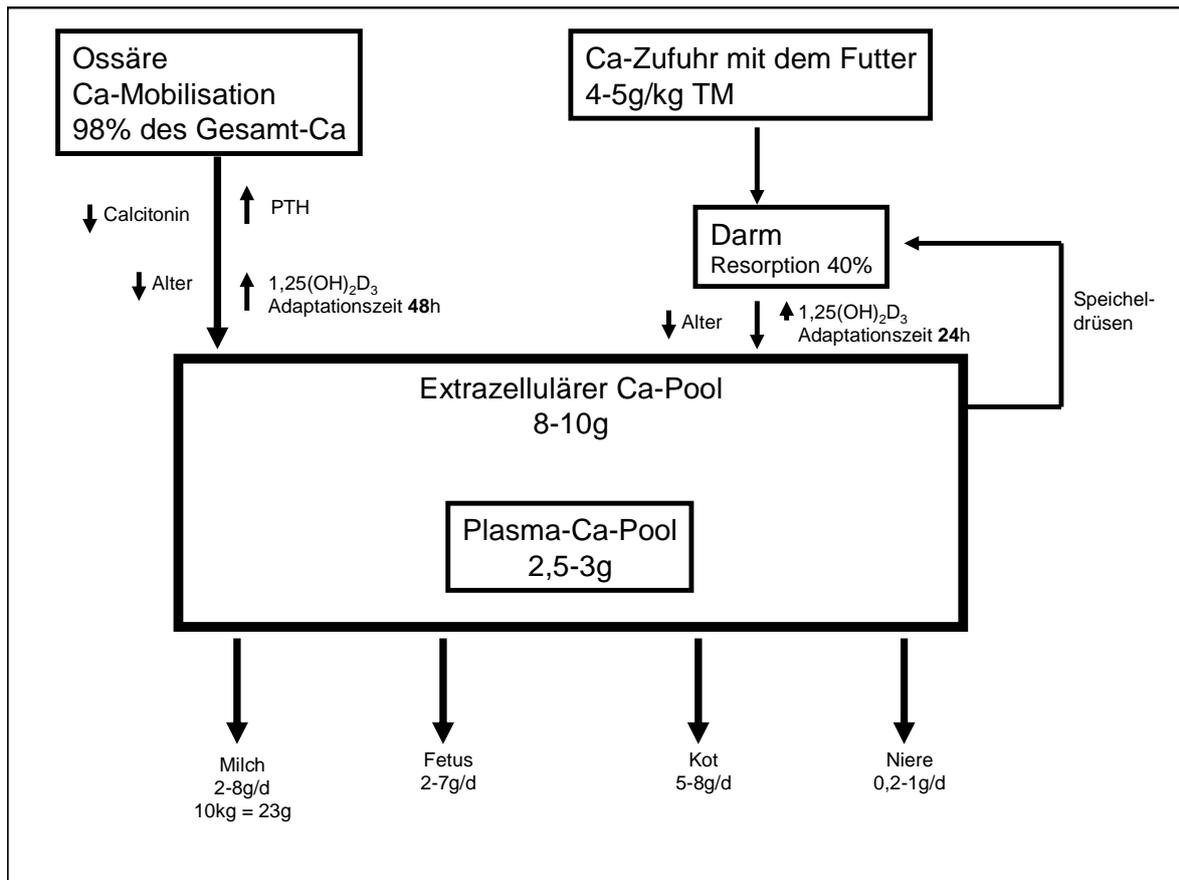


Abb. 6: Calcium-Homöostase während der *peripartalen* Phase (nach (Goff *et al.*, 1991b; Staufenbiel, 2004)).

Im weiteren Verlauf der Laktation müsste eine Kuh, die 25 kg Milch produziert, stündlich den gesamten Plasmavorrat an Ca ersetzen, um den Ca-Bedarf decken zu können (Horst, 1986). Zusätzlich geht Ca auch noch über die Faeces (5 - 10 g/d) und den Harn (0.5 - 2 g/d) verloren (Abb. 6) (Staufenbiel, 2004; Horst *et al.*, 2005). Wenn Ca aus dem Plasma abgezogen wird, muss der Ca-Verlust durch eine erhöhte intestinale Ca-Absorption und/oder ossäre Ca-Resorption kompensiert werden (Abb. 6). Das Absinken der Ca-Konzentration bewirkt automatisch eine Aktivierung der Regulationsmechanismen im Körper, in dem die PTH-Ausschüttung erhöht wird (Abb. 2). Dadurch erhöhen sich die PTH- und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentrationen im Blut (Horst *et al.*, 1978). Der Beginn einer Hypocalcämie ist somit immer mit einem Anstieg der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - sowie erhöhten PTH-Konzentrationen verbunden (Mayer *et al.*, 1969; Horst *et al.*, 1978). Durch die Signalwirkung der einsetzenden Laktation kommt es zu der gewünschten Aktivierung der Regulationsmechanismen, die eine verstärkte Ca-Mobilisation aus dem Knochen und Absorption aus dem Darm induzieren (Horst, 1986). Ramberg *et al.* (1970) konnten nachweisen, dass ein erhöhter Ca-Einstrom in der Früh-laktation jedoch ausschließlich das Resultat einer steigenden intestinalen Absorption ist. Es wurde festgestellt, dass erst 2 Wochen *post partum* die ersten Resorptionsmechanismen

aus dem Knochen zusätzlich für steigende Ca-Konzentrationen sorgen (Horst *et al.*, 1978). Damit konnte nachgewiesen werden, dass das Skelettsystem kurz nach der Abkalbung noch nicht fähig ist, auf steigende $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - und PTH-Konzentrationen zu reagieren, sodass die gesteigerte PTH-Sekretion zu Beginn der Laktation für die Kuh eher langfristig von Bedeutung ist. PTH löst jedoch dabei indirekt eine Regulationskaskade mit kurzfristigen Effekten aus, wodurch die renale $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Synthese gesteigert wird. Durch die steigende $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration wird wiederum der intestinale Ca-Transport gesteigert. Folglich könnte man argumentieren, dass die Gebärparese möglicherweise aus einer unzureichenden PTH- und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Synthese resultiert, wodurch eine intestinale Ca-Absorption nicht mehr adäquat gewährleistet werden kann (Horst *et al.*, 1978).

2.5.5 Klinische Symptomatik

Bei einer Hypocalcämie kommt es zur Ausbildung klinischer Symptome, wenn zu Beginn der Laktationsperiode das für die Kolostrumproduktion und Fötalknochenbildung benötigte Ca aus dem Plasmapool durch die ossären, intestinalen und renalen Mobilisationsvorgänge nicht adäquat ersetzt werden kann und dadurch der Plasma-Ca-Pool kontinuierlich entleert wird. (Gaynor *et al.*, 1989; Block, 1994; Goff und Horst, 1994; Phillippo *et al.*, 1994; Fürll *et al.*, 1996; Horst *et al.*, 2005).

Man unterscheidet zwischen der subklinischen und klinisch manifesten Hypocalcämie, wobei letztere wiederum in drei bis vier klinische Stadien unterteilt wird, die hier nicht näher erläutert werden (siehe (Staufenbiel, 2004)).

2.5.6 Therapie

Die Therapie der Gebärparese mithilfe einer Infusion von Ca-haltigen Lösungen ist seit Jahrzehnten bekannt, wiederholt beschrieben und aktualisiert worden (siehe (Horst *et al.*, 1997; Staufenbiel, 2004; Horst *et al.*, 2005; Gelfert *et al.*, 2007)).

2.5.7 Folgeprobleme

Aufgrund der abgesenkten Ca-Werte im Plasma kommt es wahrscheinlich zu Störungen der synaptischen Erregungsübertragung und in weiterer Folge zu einer möglichen Beeinträchtigung der Kontraktilität der Muskulatur (Goff *et al.*, 1989b) sowie einer Absenkung der Motilität und des Tonus (Curtis *et al.*, 1983; Oetzel, 1988a; Goff *et al.*, 1989b), die schließlich zu unzureichender Aktivierungsfähigkeit der Muskulatur und somit zum „Festliegen“ führt. Die Bewegungsunfähigkeit kann zu Druckschädigungen oder Ischämie von Nerven und Muskeln führen (Cox *et al.*, 1982) oder andere *postpartale* Erkrankungen (Toxämien durch Mastitis oder Metritis, Abkalbelähmung durch Nervenschäden) (Cox,

1982a) begünstigen und sich zum so genannten „*Downer cow syndrome*“ entwickeln (Goff, 2008). Dabei kommt es zum sekundären Festliegen des Tieres aufgrund der genannten Erkrankungen.

Es ist auch bekannt, dass sich durch Gebärparesen sekundäre Folgerkrankungen entwickeln, wie z.B.:

- eine 8-mal höhere Inzidenz für Ketosen und Mastitiden (vor allem coliforme Mastitiden) (Curtis *et al.*, 1983; Curtis *et al.*, 1985; Oetzel, 1988a; Goff und Horst, 1997b)
- eine erhöhte Inzidenz für Fruchtbarkeitsstörungen (Curtis *et al.*, 1983)
- Schweregeburten (Houe *et al.*, 2001)
- *Retentio secundinarium* (Curtis *et al.*, 1983; Curtis *et al.*, 1985; Oetzel, 1988a; Kamphues, 1996; Horst *et al.*, 1997; Houe *et al.*, 2001)
- *Dislocatio abomasi* (Curtis *et al.*, 1983; Oetzel, 1988a; Horst *et al.*, 1997; Houe *et al.*, 2001)
- Tympanie (Allen und Sansom, 1985)
- Metritis (Kamphues, 1996; Houe *et al.*, 2001)
- Dystokie (Curtis *et al.*, 1983; Curtis *et al.*, 1985; Oetzel, 1988a; Horst *et al.*, 1997; Houe *et al.*, 2001)
- Sekundäre Pneumonie (Allen und Sansom, 1985)
- Hepatose (Curtis *et al.*, 1985)
- *Prolaps recti* (Oetzel, 1988a)
- und *Prolaps uteri* (Curtis *et al.*, 1983; Horst *et al.*, 1997; Houe *et al.*, 2001).

2.5.8 Präventive Möglichkeiten

Gebärparesen verursachen weltweit die meisten finanziellen Verluste (Littledike *et al.*, 1981) durch sinkende Produktivität, zunehmender Empfänglichkeit für Sekundärerkrankungen, steigende Behandlungskosten und zunehmende Tierverluste. Auf Grund dessen sind zahlreiche Versuche im Hinblick auf präpartale Fütterungsmaßnahmen, Beeinflussung der PTH-Sekretion und den Einsatz von Vitamin D und dessen Metaboliten unternommen worden, um diesem Problem entgegenzuwirken.

2.5.9 Praxisrelevante Möglichkeiten

Um die Inzidenz der Gebärparesen zu senken, müssen grundsätzlich die Haltungs- und Fütterungsbedingungen optimiert werden. Dazu ist eine strenge Konditionierung der Tiere während der Trockenstehphase unbedingt notwendig.

Allgemeine und spezielle Maßnahmen (Vgl. auch Abb. 7) zur Prophylaxe der Gebärparesen der Milchkuh schließen ein (übernommen aus (Staufenbiel, 2004)):

2.5.9.1 Allgemeine Prophylaxemaßnahmen

- Gewährleistung einer hohen Futteraufnahme im Kalbezeitraum
- Vermeidung einer Verfettung durch systematische Anwendung der Konditionsbeurteilung in der Laktation
- rutschfeste Liegeflächengestaltung
- Minimierung der Verletzungsursachen durch Optimierung des Kuhkomforts
- verzögertes Ausmelken bis maximal 3 Tage nach dem Kalben
- Zwangsverabreichung von 20 l warmen Wassers bzw. einer Wirkstofflösung (Vitamine, Mengen- und Spurenelemente, Propylenglykol) mit einer Sonde direkt in den Pansen (Drenchen)

2.5.9.2 Spezielle Prophylaxemaßnahmen

- wiederholte orale Gaben von 50 - 70 g Calcium in Form von CaCl_2 oder besser von organischen Ca-Verbindungen (produktabhängig mit zusätzlichem Phosphor) 1 Tag vor dem Kalben, zum Kalben sowie 12 und 24 h nach dem Kalben
- restriktives Calciumangebot in der Trockenstehperiode (unter 30 g/Tag) durch den Einsatz calciumfreier Mineralstoffmischungen
- Intramuskuläre Applikation von 10 Mio. IU Vitamin D_3 1 Woche vor dem Kalben
- Erhöhung des Anionengehaltes (Cl^- , SO_4^{2-}) der Ration in der zweiten Hälfte der Trockenstehperiode (DCAB-Konzept)

Studien haben gezeigt, dass eine Verabreichung von CaCl_2 einige Tage vor bis 2 Tage nach der Abkalbung nachweislich die Gebärpareseinzidenz senken kann (Ringarp *et al.*, 1967; Jäkel, 2002, 17.01.-19.01.). Dabei werden große Mengen CaCl_2 oral appliziert, um die passive Diffusion von Ca ins Blut zu forcieren und in weiterer Folge die Ca-Konzentration im Blut während der *peripartalen* Phase zu erhöhen (Abb. 8) (Horst *et al.*, 2005).

2.5.9.3 Weitere Möglichkeiten

- Einmischung von „Ca-Fängern“ (Zeolithe) ins Futter (siehe (Littledike *et al.*, 1981; Jorgensen, R. J. *et al.*, 2001; Thilsing-Hansen *et al.*, 2002a; Thilsing-Hansen *et al.*, 2003))
- restriktive Phosphor-Fütterung (Littledike *et al.*, 1981; Thilsing-Hansen *et al.*, 2002)
- PTH-Infusionen → können zwar prophylaktisch gegen ein erhöhtes Gebärpareseaufkommen eingesetzt werden, sind jedoch auf Grund des hohen Aufwands und der hohen Kosten des Hormons nicht praxisrelevant (Goff *et al.*, 1986; Goff *et al.*, 1989a; Horst *et al.*, 1997)
- Diäten mit geringem Calciumgehalt (≤ 22 g/Tag) (Horst *et al.*, 2005; Goff, 2008) (Abb. 8) → sind durch die stimulierende Wirkung von PTH zwar sehr effektiv, aber aufgrund der relativ hohen Ca-Gehalte der Grundfuttermittel in der Praxis kaum zu realisieren (Staufenbiel, 2004; Goff, 2006a)

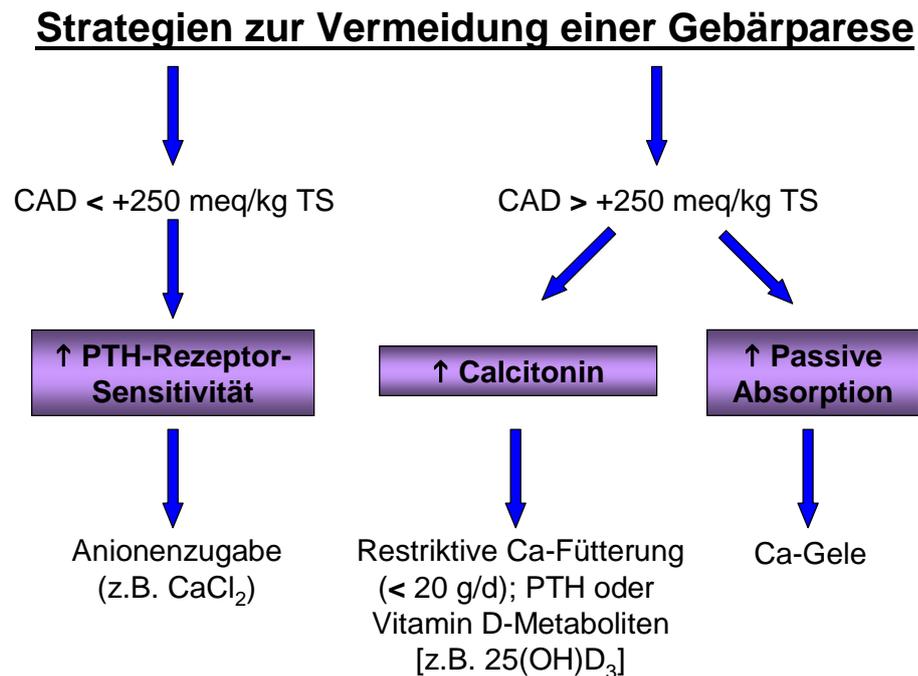


Abb. 7: Strategien zur Vermeidung einer Gebärparese (CAD = Kationen-Anionen-Differenz) (nach (Horst *et al.*, 1997)).

Das Forschungsinteresse der letzten Jahre bezog sich primär auf die Umsetzung des DCAB-Konzeptes in der Praxis (Ender *et al.*, 1971; Block, 1984; Oetzel *et al.*, 1988b; Goff *et al.*, 1991a; Horst *et al.*, 1997; Goff und Horst, 1997a; Goff, 2000; Oetzel, 2000; Staufenbiel, 2000; Staufenbiel, 2004; Goff, 2008). Da Metabolite des Vitamin D inzwischen preisgünstig produziert werden können, sind auch mit diesen Substanzen erneut Versuche initiiert worden.

2.5.10 Einfluss des DCAB-Konzeptes auf den Calciumhaushalt während der Geburtsphase

Eine der am häufigsten angewendeten Methoden der Gebärpareseprophylaxe ist die extensive Ca-Fütterung (80 - 150 g/d) in der Trockenstehphase mithilfe des DCAB-Konzeptes (*dietary-cation-anion-balance*) (Abb. 7 und Abb. 8).

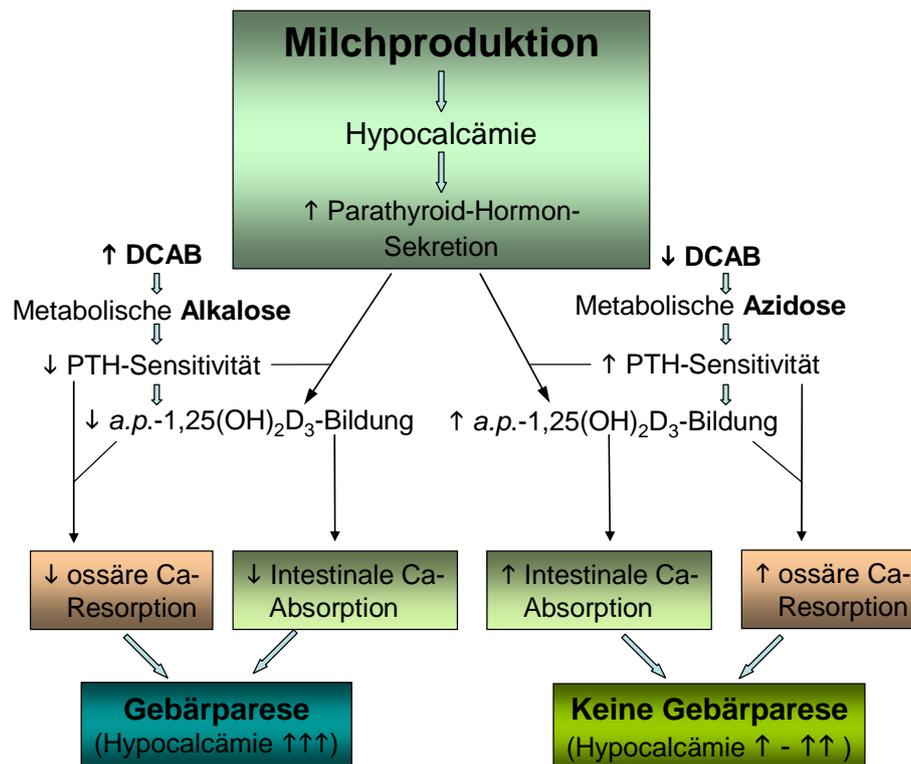


Abb. 8: Einfluss des DCAB-Konzeptes auf die Gebärparese (nach (Horst *et al.*, 2005)).

Ender *et al.* (Ender *et al.*, 1971; Horst *et al.*, 1997) fanden heraus, dass eine Fütterung mit anorganischen Salzen *antepartal* das Gebärpareserisiko entscheidend minimieren kann. Sie erkannten auch, dass die Gebärparesinzidenz von der Erhöhung der Kationen (Na^+ und K^+) in Relation zu den Anionen (Cl^- und SO_4^{2-}) abhängt. Das Gebärparesaufkommen wird bei einer alkalotischen Stoffwechsellage und einer Hyperkaliämie maßgeblich erhöht, während sie bei einer azidotischen Stoffwechsellage gesenkt werden kann (Goff, 2008). In diesem Zusammenhang wird Kalium eine zentrale Rolle zur Reduzierung der Gebärparese zugeschrieben (Goff und Horst, 1997a). Dazu sollte der K^+ -Gehalt des Futters 10 g/kg TM nicht überschreiten (Goff, 2008). Da der K^+ -Gehalt im Futter aber kaum beeinflusst werden kann, kann man mithilfe des DCAB-Konzeptes die Relation zwischen dem Gehalt an Kationen starker Basen (Na^+ und K^+) zu Gunsten der Anionen starker Säuren (Cl^- und SO_4^{2-}) verschieben. Die äquimolare Differenz der Kationen und Anionen in der Ration ergibt den Wert der Nahrungskationenbilanz (DCAB) und den pH-Wert im Blut (Staufenbiel, 2000; Goff, 2008).

Dadurch wird eine deutliche Steigerung des Ca-Umsatzes (ionisiertes Ca) bei der Abkalbung und zu Beginn der Laktation erreicht (Oetzel *et al.*, 1988b; Goff *et al.*, 1991a; Staufenbiel,

2000). Ausgedrückt wird diese Kationen-Anionen-Differenz (CAD) durch folgende Formel (in Milliäquivalent pro kg Trockenmasse) (Goff, 2000; Oetzel, 2000; Staufenbiel, 2004):

$$\text{DCAB (meq/kg TS)} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{S}^{2-})$$

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass eine CAD von -50 meq/kg TS bis -100 meq/kg TS zur Vermeidung einer Gebärparese beim Rind optimal ist (Horst *et al.*, 1997). Block *et al.* empfehlen eine CAD von -150 meq/kg TS bis -100 meq/kg TS (Block, 1984). Bei Anwendung des DCAB-Konzeptes wird die Calcium-Homöostase durch den Säure-Basen-Haushalt indirekt beeinflusst.

Durch das Erzeugen einer azidotischen Stoffwechsellage intensiviert man die Verfügbarkeit von Ca und P (Staufenbiel, 2000). Außerdem wird die PTH- und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Synthese stimuliert, die wiederum die Osteoklastenaktivität und demzufolge die Ca-Mobilisation aus dem Knochen, die intestinale Ca-Absorption, sowie die renale Ca-Rückresorption aktiviert. Insgesamt wird auf diese Weise ein Abfall der Plasma-Ca-Konzentration im Blut verhindert und damit auch die Inzidenz der Gebärparese gesenkt (Abb. 7 und Abb. 8) (Ramberg *et al.*, 1984; Horst, 1986; Block, 1994; Horst *et al.*, 1997).

Werden jedoch mit dem Futter vermehrt Kationen (Kalium, Natrium) aufgenommen, führt das zur Verschiebung des Säure-Basen-Status in den basischen Bereich, wodurch sich eine alkalotische Stoffwechsellage entwickelt, die einen Anstieg des Blut-pH-Wertes und des pH-Wertes im Urin zur Folge hätte. Die Konsequenz wäre eine Erhöhung der Gebärpareseinzidenz (Horst *et al.*, 1997; Goff und Horst, 1997a; Horst *et al.*, 2005).

2.6 Zusammenfassung der Literatur mit der daraus resultierenden Aufgabenstellung zum Einsatz von Vitamin D und seinen Metaboliten

Calcium ist für jedes Lebewesen ein essentieller Mineralstoff mit extra- und vor allem intrazellulären Funktionen in verschiedenen Organen und Zellen des Körpers.

Zum Kalbezeitpunkt des Milchrindes werden große Mengen an Calcium für die Kolostrumbildung benötigt. Die damit verbundene rasche Steigerung des Calciumbedarfs überfordert die genannten Regulationsmechanismen, sodass der pathologische Zustand einer Hypocalcämie eintreten kann. Die Vielfalt der Funktionen und die Toxizität von Hypercalcämien erfordern eine abgestimmte Regulation des Ca-Haushalts.

Die verzögerte Adaptation der Regulation des Ca-Haushalts wird verständlich, wenn man sich die Kaskade der Reaktionsschritte zur Regulation des Ca-Haushalts verdeutlicht.

Dem Calcium-sensitiven Rezeptor kommt dabei eine Schlüsselrolle in der Erhaltung einer konstanten extrazellulären (ionisierten) Calciumkonzentration zu. In der Nebenschilddrüse

regulieren die CaR's sowohl die Synthese und Sekretion von PTH als auch die Genexpression von PTH sowie das Zellwachstum. All diese Eigenschaften werden bei hohen Ca^{2+} -Konzentrationen gehemmt und bei niedrigen Ca^{2+} -Konzentrationen stimuliert und führen dann zu entsprechender Freisetzung von PTH, sodass eine Ca^{2+} -Konzentration zwischen 1.1 - 1.3 mmol/l (ionisiert) aufrechterhalten wird.

Klassische Studien über den Calciummangel haben gezeigt, dass PTH und der Vitamin D-Metabolit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ für die Hauptregulationsmechanismen der Calcium-Homöostase verantwortlich sind. Eine hohe Calciumkonzentration im Blut hemmt, eine niedrige fördert die PTH-Sekretion. Durch PTH wird hauptsächlich die Serumkonzentration von Calcium und Phosphor reguliert. Durch PTH werden Nieren und Knochen direkt sowie der Darm indirekt via $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ beeinflusst und dadurch der abgesenkte Blut-Calcium-Spiegel auf unterschiedliche Weise wieder heraufgesetzt.

Einer der bedeutendsten Faktoren bei der Regulation der Ca-Homöostase ist Vitamin D bzw. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Nach bisherigen Erkenntnissen beeinflusst die orale Supplementierung von Vitamin D oder dessen Metaboliten die Konzentration von Calcium, Magnesium und Phosphat im Serum durch eine Stimulation der ossären Calciummobilisierung, einer erhöhten enteralen Calciumabsorption und einer Förderung der renalen Reabsorption. Trotz der großen Bedeutung von Vitamin D bei der Regulation des Ca-Haushalts hat sich die Applikation von Vitamin D_3 , von $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zur Prophylaxe der Gebärpause nicht durchgesetzt. Die bisherigen Studien führten meistens auf Grund folgender Umstände nicht zum Erfolg:

- a) die Spanne zwischen wirksamer und toxischer Menge ist sehr eng
- b) eine Wirkung wurde nur erzielt, wenn zum richtigen Zeitpunkt die richtige Dosis mit der korrekten *anteperalen* Supplementationsdauer gewählt wurde
- c) *anteperale* Haltungs- und Fütterungsfehler, die in der Endphase der Laktation und während der Trockenstehphase initiiert wurden, verringerten die Wirksamkeit von Vitamin D und dessen Metaboliten

Die vorliegende Studie basiert auf der Hypothese, dass mithilfe einer oralen Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ der *peripartale* Abfall der Ca-Konzentration im Plasma verringert werden kann. In den durchgeführten Versuchen sollte daher getestet werden, ob dieser positive Effekt auf den Ca-Haushalt durch den Einsatz unterschiedlicher Dosierungen von $25(\text{OH})\text{D}_3$ und durch eine unterschiedliche Supplementationsdauer von 21- bzw. 7 Tagen optimiert werden kann.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Arbeitshypothese zu überprüfen, ob mit einer *anteperalen* $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Supplementierung in den gewählten Dosierungen ein positiver Effekt auf die Ca-

Literaturteil

Homöostase des Milchrindes ausgeübt werden kann und welche Effekte durch die unterschiedliche Supplementationsdauer dabei hervorgerufen werden.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Der Betrieb

Die vorliegende Studie wurde von Mitte März bis Mitte Juli 2007 (Experiment 1) und von Mitte Januar bis Mitte Mai 2008 (Experiment 2) in einer Milchviehanlage in Schwabhausen/Thüringen durchgeführt. Der Betrieb beinhaltet durchschnittlich 960 laktierende Kühe und 140 Färsen, die aus eigener Nachzucht stammen. Zusätzlich befinden sich auf dem Hof durchschnittlich 100 Kälber. Bei den Kühen handelt es sich zu 95 % um die Rasse „Schwarzbuntes Milchrind“ mit Einkreuzung *Holstein-Friesian* und zu 5 % Rinder der Rasse „Rotbuntes Milchrind“. 2007 lag die durchschnittliche Milchleistung des Betriebes bei 9600 kg Milch/Kuh (Milchinhaltstoffe: 4.2 % Fett und 3.3 % Eiweiß). Neugeborene Kälber werden nach der Geburt sofort (max. 1 h *p.p.*) von der Mutter getrennt und in Kälberiglus aufgezogen. Nach 4 Wochen werden die weiblichen Kälber in einen Aufzuchtbetrieb nach Wechmar/Thüringen abgegeben. Fresser werden dabei in einem Färsenaufzuchtbetrieb eingestallt und zur Hälfte als tragende Färsen in den Betrieb zurückgekauft. Männliche Kälber werden im Alter von 2 - 3 Wochen verkauft. Adulte Rinder werden in Gruppen zu ca. 100 Tieren in Boxenlaufställen mit Spaltenboden gehalten. Die Milchgewinnung erfolgt 3-mal pro Tag in einem Milchkarussell in gleichmäßigem zeitlichem Abstand.

3.2 Fütterung der Versuchstiere

Die Kühe wurden 8 - 10-mal pro Tag über eine computergesteuerte Hochbandfütterung mit einer totalen Mischration (TMR) gefüttert. In der TMR enthalten war eine durchschnittliche Vitamin D₃-Konzentration von 16300 IU/kg. Die Tiere bekamen abhängig vom Laktationsstadium 5 verschiedene Rationen (Trockensteher 1, Trockensteher 2, Starter, Hochleistungstiere, Abmelker). Die Zusammensetzungen und deren Inhaltsstoffe der zutreffenden Rationen für die jeweiligen Versuchstiere wurden beim *Blgg Deutschland, Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt*, in Parchim untersucht. In den Tab. 3 bis Tab. 8 sind die Mittelwerte der im Verlauf des Versuchs gezogenen Proben aufgeführt. Die Trinkwasserversorgung erfolgte *ad libitum* über Selbsttränkebecken.

3.2.1 Rationszusammensetzung im Verlauf des 1. Experiments

Tab. 3: Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Trockensteher 1) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	232,00	249,00	238,33
Rohprotein (g/kg TS)	127,00	132,00	130,33
Rohasche (g/kg TS)	71,00	77,00	73,67
Zucker (g/kg TS)	24,50	63,70	41,57
Stärke (g/kg TS)	145,80	173,30	158,00
ADF (g/kg TS)	271,00	290,00	281,00
Calcium (g/kg TS)	5,59	7,37	6,24
Phosphat (g/kg TS)	3,38	4,03	3,77
Magnesium (g/kg TS)	2,50	2,99	2,79
Kalium (g/kg TS)	14,18	17,11	15,93
Natrium (g/kg TS)	2,29	4,01	2,93
Chlorid (g/kg TS)	8,15	10,08	8,94
Schwefel (g/kg TS)	0,84	1,27	1,12
ME (MJ/kg TS)	9,80	10,20	10,00
NEL (MJ/kg TS)	6,00	6,50	6,20
DCAB (meq/kg TS)	190,00	234,00	213,33

Tab. 4: Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Trockensteher 2) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	210,00	227,00	221,00
Rohprotein (g/kg TS)	116,00	138,00	126,67
Rohasche (g/kg TS)	71,00	98,00	81,33
Zucker (g/kg TS)	38,40	52,10	44,30
Stärke (g/kg TS)	141,30	204,20	168,73
ADF (g/kg TS)	239,00	265,00	254,33
Calcium (g/kg TS)	7,77	9,45	8,45
Phosphat (g/kg TS)	2,94	4,03	3,59
Magnesium (g/kg TS)	2,47	2,72	2,62
Kalium (g/kg TS)	8,32	16,42	12,86
Natrium (g/kg TS)	1,29	2,52	1,94
Chlorid (g/kg TS)	6,50	18,96	10,88
Schwefel (g/kg TS)	0,66	1,14	0,92
ME (MJ/kg TS)	10,10	10,50	10,33
NEL (MJ/kg TS)	6,00	6,70	6,33
DCAB (meq/kg TS)	-283,00	246,00	49,67

Tab. 5: Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Starter) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	210,00	218,00	213,66
Rohprotein (g/kg TS)	126,00	151,00	138,66
Rohasche (g/kg TS)	63,00	96,00	79,33
Zucker (g/kg TS)	41,40	46,60	44,36
Stärke (g/kg TS)	154,00	207,00	175,57
ADF (g/kg TS)	245,00	251,00	249,00
Calcium (g/kg TS)	4,79	8,43	6,86
Phosphat (g/kg TS)	3,10	4,83	4,11
Magnesium (g/kg TS)	2,45	4,03	3,20
Kalium (g/kg TS)	14,27	16,99	16,04
Natrium (g/kg TS)	2,33	3,59	2,92
Chlorid (g/kg TS)	7,92	13,31	9,90
Schwefel (g/kg TS)	0,72	1,29	1,07
ME (MJ/kg TS)	10,40	11,00	10,63
NEL (MJ/kg TS)	6,20	6,80	6,53
DCAB (meq/kg TS)	138,00	255,00	192,00

3.2.2 Rationszusammensetzung im Verlauf des 2. Experiments

Tab. 6: Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Trockensteher 1) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	190,00	257,00	215,50
Rohprotein (g/kg TS)	131,00	156,00	140,33
Rohasche (g/kg TS)	70,00	109,00	83,17
Zucker (g/kg TS)	16,80	36,30	28,87
Stärke (g/kg TS)	59,20	209,20	150,57
ADF (g/kg TS)	233,00	303,00	259,33
Calcium (g/kg TS)	4,95	6,51	5,82
Phosphat (g/kg TS)	3,42	3,83	3,69
Magnesium (g/kg TS)	2,34	2,99	2,57
Kalium (g/kg TS)	14,34	22,10	16,61
Natrium (g/kg TS)	1,18	2,57	1,88
Chlorid (g/kg TS)	4,77	9,84	7,40
Schwefel (g/kg TS)	0,91	1,97	1,33
ME (MJ/kg TS)	9,70	11,20	10,63
NEL (MJ/kg TS)	5,70	6,80	6,45
DCAB (meq/kg TS)	153,00	265,00	215,17

Tab. 7: Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Trockensteher 2) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	171,00	198,00	185,33
Rohprotein (g/kg TS)	132,00	158,00	143,17
Rohasche (g/kg TS)	69,00	93,00	82,00
Zucker (g/kg TS)	27,90	52,40	41,50
Stärke (g/kg TS)	154,50	216,90	192,93
ADF (g/kg TS)	212,00	238,00	225,50
Calcium (g/kg TS)	5,79	11,51	7,80
Phosphat (g/kg TS)	3,66	4,22	3,90
Magnesium (g/kg TS)	2,78	3,73	3,27
Kalium (g/kg TS)	12,12	15,38	13,42
Natrium (g/kg TS)	1,72	5,35	3,28
Chlorid (g/kg TS)	6,96	13,61	11,32
Schwefel (g/kg TS)	0,95	1,30	1,08
ME (MJ/kg TS)	10,90	11,50	11,17
NEL (MJ/kg TS)	6,60	7,10	6,82
DCAB (meq/kg TS)	28,00	145,00	99,50

Tab. 8: Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Starter) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als DCAB [meq/kg TS] = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-})$.

Futterkomponente	Min	Max	Mittelwert
Rohfaser (g/kg TS)	165,00	195,00	182,17
Rohprotein (g/kg TS)	133,00	155,00	142,83
Rohasche (g/kg TS)	68,00	109,00	88,33
Zucker (g/kg TS)	30,60	61,70	43,17
Stärke (g/kg TS)	160,00	208,20	188,67
ADF (g/kg TS)	215,00	234,00	226,33
Calcium (g/kg TS)	5,13	13,09	9,14
Phosphat (g/kg TS)	3,72	4,68	4,20
Magnesium (g/kg TS)	2,69	3,74	3,19
Kalium (g/kg TS)	12,28	15,45	13,44
Natrium (g/kg TS)	1,57	4,78	3,40
Chlorid (g/kg TS)	5,11	12,81	9,00
Schwefel (g/kg TS)	0,97	1,28	1,16
ME (MJ/kg TS)	11,00	11,50	11,23
NEL (MJ/kg TS)	6,70	7,10	6,87
DCAB (meq/kg TS)	75,00	222,00	165,83

3.3 Auswahl der Versuchstiere und Versuchsaufbau

3.3.1 Experiment 1

Für die vorliegende Studie wurden aus statistischen Gründen 48 multipare Kühe eingeschlossen. Die Tiere wurden nach Laktationsstadium, Zwischenkalbezeit (≤ 400 d), voraussichtlichem Kalbetermin und Milchleistung in vier äquivalente Gruppen eingeteilt. Es wurden keine Färsen oder Hochleistungstiere (Kühe mit einer durchschnittlichen Milchleistung von > 11000 l/Jahr) in die Studie aufgenommen. Nach dem Losverfahren wurde den Gruppen die jeweilige Dosiermenge zugeordnet. Drei Wochen vor dem errechneten Geburtstermin wurde mit der Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ begonnen. Dabei wurden die jeweiligen Gruppen mit 0.5 mg, 1.0 mg oder 2.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ bis zur Abkalbung täglich supplementiert. Die verbleibende Gruppe diente als Kontrollgruppe und wurde nicht supplementiert. Die Versuchstiere wurden nicht in gesonderte Räumlichkeiten verbracht, sondern im normalen betrieblichen Ablauf belassen, wo sie 3 Wochen *ante partum* in Gruppen von bis zu 25 Tieren gehalten wurden. Zur besseren Kenntlichmachung wurden sie am Rücken mit Viehzeichenspray gekennzeichnet und für die Durchführung der Supplementierung einen Tag vor Versuchsbeginn aufgehältert. Durch das Zufallsprinzip wurden sowohl Schwarzbunte als auch Rotbunte Rinder in den Versuch eingegliedert. Bei allen Gruppen wurde der Calcium- und Magnesiumstoffwechsel während der Supplementierungsphase und nach der Abkalbung durch regelmäßige Entnahme von Blutproben zur Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Kurve untersucht.

Dabei wurden folgende Probenentnahmezeitpunkte ausgewählt:

- Beginn der Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ 3 Wochen vor dem errechneten Geburtstermin
- Blutprobenentnahme am Tag 1 der Supplementierung (2 Proben/ 4 Röhrchen) sowie je eine Blutprobe (2 Röhrchen) am Tag 2, 3, 5, 7, 10 und danach im 3-Tages-Abstand bis zur Geburt
- Geburt: Entnahme von je einer Blutprobe 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, 1 d, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d und 10 Tage nach der Geburt
- Zusätzlich zu den Blutproben wurden Harnproben am Tag 1 und Tag 10 der Supplementierung und am Tag 1, Tag 3, Tag 5 und Tag 10 *post partum*, sowie Milchproben am Tag 1, Tag 5 und Tag 10 *post partum* entnommen.

3.3.2 Experiment 2

In die zweite Studie wurden aus statistischen Gründen ebenfalls 48 multipare Kühe eingeschlossen. Die Tiere wurden wiederum nach Laktationsstadium, Zwischenkalbezeit (≤ 410 d), voraussichtlichem Kalbetermin und Milchleistung in vier äquivalente Gruppen eingeteilt. Es wurden keine Färsen oder Hochleistungstiere (Kühe mit einer durchschnittlichen Milchleistung von > 11500 l/Jahr) in die Studie aufgenommen. Nach dem Losverfahren wurde den Gruppen die jeweilige Dosierungsmenge zugeordnet. Eine Woche vor dem errechneten Geburtstermin wurde mit der Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ begonnen. Dabei wurden die jeweiligen Gruppen mit 1.0 mg, 2.0 mg oder 4.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ maximal sieben Tage täglich supplementiert. Die verbleibende Gruppe diente als Kontrollgruppe und wurde nicht supplementiert. Da im Verlauf des zweiten Experiments nicht so viele Tiere wie im ersten Experiment zur Verfügung standen, mussten die o.a. Auswahlkriterien ein wenig erweitert werden. Die Restbedingungen und Gegebenheiten verhalten sich analog zu Experiment 1.

Die Untersuchung des Calcium- und Magnesiumstoffwechsels zur Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Kurve wurde im Vergleich zu Experiment 1 ein wenig abgeändert.

Dabei wurden folgende Probenentnahmezeitpunkte ausgewählt:

- Beginn der Supplementation von $25(\text{OH})\text{D}_3$ 1 Woche vor dem errechneten Geburtstermin
- Blutprobenentnahme am Tag 1 der Supplementation (2 Proben/ 4 Röhrchen) sowie je eine Blutprobe (2 Röhrchen) am Tag 2, 3, 4, 5, 6, 7 und danach täglich bis zur Geburt
- Geburt: Entnahme von je einer Blutprobe 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, 1 d, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d und 10 Tage nach der Geburt
- Zusätzlich zu den Blutproben wurden Harnproben am Tag 1 und Tag 3 der Supplementation und am Tag 3 und Tag 5 *post partum* entnommen
- es wurden keine Milchproben entnommen.

3.3.3 Supplementierung mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Dosis-Wirkungs-Kurve

Zur Entwicklung der Dosis-Wirkungs-Kurven standen für jedes Experiment 48 Tiere aus 4 verschiedenen Dosierungsgruppen zur Verfügung. Die Supplementation der Tiere erfolgte mit einem $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Öl-Gemisch. Dazu wurden 2 g des 1,25 %-igen $25(\text{OH})\text{D}_3$ von der Firma *DSM Nutritional Products* in 100 ml Speiseöl genau nach Berechnung mit einer Tischwaage (440 - 35 N, $d = 0.01$ g, Firma KERN®) eingewogen und anschließend in einem Glasgefäß mit einem Magnetrührer (R 1000, Firma ROTH®) homogenisiert. Das homogenisierte Gemisch wurde mit 10 ml Spritzen (Norm-Ject, Firma HENK/SASS/WOLF®)

aufgezogen und den Versuchstieren oral verabreicht. Die Supplementierung wurde jeden Tag, 21 Tage bzw. eine Woche *ante partum* beginnend, gegen 13 Uhr durchgeführt. Um die Wirkung der Supplementation von 25(OH)D₃ auf den Calcium- und Magnesiumspiegel im Blut zu bestimmen, wurde den Versuchstieren vor der Supplementierung Blut, Harn und im Experiment 1 Milch nach dem Entnahmeschema entnommen. Bei den 12 Tieren der Kontrollgruppe wurde keine Supplementierung durchgeführt.

3.3.4 Probenentnahme, -aufbereitung und -verwahrung

3.3.5 Blutproben

Die Blutproben wurden mittels rosa Einmalkanülen (Firma B-BRAUN[®], 100 Sterican, 1.2x40 mm) aus der Schwanzvene (Vena coccygea) der Versuchstiere gewonnen, in 2x10 ml Lithium-Heparinröhrchen (Firma KABE[®] Labortechnik) abgefüllt und bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt. Die Proben wurden nach Abschluss der täglichen Versuchsreihe sofort mittels Zentrifuge (EBA 12 der Firma HETTICH[®] TUTTLINGEN) 10 Minuten bei 5340 U/min oder 3800 g zentrifugiert und in Eppendorfgefäße (Firma KISKER[®] GbR, 2.0 ml) abpipettiert. Das zentrifugierte Plasma wurde auf 5 Eppendorfgefäße je Lithium-Heparinröhrchen aufgeteilt, sodass für jeden Versuchszeitpunkt 10 Plasmaproben zur Verfügung standen. Die anschließende Analyse der ionisierten Calcium- und Magnesium-Werte wurde vor Ort mit einem Gerät der Firma NOVA biomedical[®] CRT 1-14 durchgeführt. Die Referenzwerte des Geräts wurden regelmäßig mithilfe von 2 Kontrolllösungen (Control 1, Control 2) der Firma NOVA auf Richtigkeit kontrolliert. Nach abgeschlossener Analyse wurden die Eppendorfgefäße in Styro-Racks (Firma NEOLAB[®] HEIDELBERG) zu je 50 Stück im Tiefkühlschrank bei -18 °C aufbewahrt.

3.4 Bestimmungsmethoden

Die Analyse der gesammelten Blutproben auf Gesamtcalcium, -magnesium und Phosphat erfolgten im Klinischen Labor der *Klinik für Rinder an der Tierärztlichen Hochschule Hannover (TiHo)*. Die Bestimmung der Konzentrationen von ionisiertem Calcium und ionisiertem Magnesium wurde vor Ort selbstständig mit einem Gerät der Firma NOVA biomedical[®] CRT 1-14 durchgeführt. Die Analyse von Hydroxycholecalciferol und Dihydroxycholecalciferol erfolgte im Analytical Research Center der *Firma DSM Nutritional Products* in Kaiseraugst (Schweiz). Die verwendeten Analysemethoden zur Bestimmung der o.a. Parameter sowie die technischen Daten der verwendeten Laborgeräte sind in den Tab. 9 bis Tab. 11 dargestellt.

Tab. 9: Zusammenstellung der im Klinischen Labor der *Klinik für Rinder (TiHo-Hannover)* untersuchten Probenparameter und verwendete Analysemethoden, Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
Gesamtmagnesium	Photometrischer	Cobas Mira Plus	2,11%
	Farbtest mit Xylidylblau	Fa. HOFFMANN LA	
Phosphat	Photometrischer UV-Test mit Endpunktbestimmung	ROCHE & Co.AG,	1,21%
Gesamtcalcium	Photometrischer Farbtest unter Verwendung von Methylthymolblau	Diagnostica, Basel Schweiz	1,66%

Tab. 10: Zusammenstellung der selbstständig untersuchten Probenparameter, verwendete Analysemethoden und Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
Ionisiertes Calcium	Ionensensitive Calciumelektrode	Elektrolyte 8	2,00%
		Analyzer,	
Ionisiertes Magnesium	Ionensensitive Magnesiumelektrode	Fa. NOVA biomedical	1,21%

Tab. 11: Zusammenstellung der im Analytical Research Center der *Firma DSM Nutritional Products* untersuchten Probenparameter, verwendete Analysemethoden und Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
25(OH)D ₃	High-Pressure-Liquid-Chromatography-Massenspektrometrie	Agilent 1100	2,00%
1,25(OH) ₂ D ₃	n/a	LC/MSD-System mit APCI-Quelle	

3.5 Verarbeitung der Daten/Statistische Auswertung

Die graphische Darstellung und statistische Auswertung der erhobenen Versuchsparameter erfolgte mit den Programmen Windows Excel (Version 2003), SigmaPlot (Version 8.0 für Windows) und SPSS (Version 15.0 für Windows) der Firma SPSS Inc..

Für die Auswertung der untersuchten Parameter wurden mit SigmaPlot Liniendiagramme mit den Zeitpunkten der Probenentnahme auf der Ordinate gezeichnet, um visuell einen Eindruck über die Dosis-Wirkungs-Beziehung und deren Einfluss auf die einzelnen Parameter zu erhalten. Bei der statistischen Auswertung wurde ausschließlich nach signifikanten Unterschieden zwischen der Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen

gesucht. Zunächst wurde für jeden Parameter der arithmetische Mittelwert und die dazugehörige Standardabweichung innerhalb der jeweiligen Gruppe mit Microsoft Excel berechnet und anschließend mit SigmaPlot graphisch dargestellt. Die Normwerte der Standardabweichungen wurden in einer Tabelle zusammengefasst. Zur Festlegung der statistischen Tests erfolgte im nächsten Schritt eine Überprüfung aller Einzel-, Mittel- und *AUC*-Werte (*Area under the curve*) auf Normalverteilung mithilfe des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests. Die statistische Auswertung der Mittelwerte aller Parameter erfolgte anschließend mithilfe des t-Tests nach WELCH (unabhängige Stichproben mit ungleichen Varianzen). Der t-Test ist ein parametrisches Prüfverfahren vorwiegend für Mittelwerte, deren Prüfgröße unter der Nullhypothese der zentralen t-Verteilung folgt (Wiesner und Ribbeck, 2000). Dabei wird der errechnete t-Wert mit der t-Wert Fläche verglichen, die in Tabellen vorliegt, entsprechend der Irrtumswahrscheinlichkeit α und den entsprechenden Freiheitsgraden. Ist der errechnete t-Wert des Vergleichs zweier Mittelwerte $>$ als der t-Wert in den Tabellen, dann gehören die Stichproben keiner gemeinsamen Grundgesamt mit gleichem Mittelwert an und sind demnach signifikant voneinander verschieden.

Da die Proben nur annähernd normalverteilt waren, wurde der t-Test unter Ausschluss der jeweiligen Ausreißer durchgeführt. Unterstützend zum t-Test wurden für alle drei Parameter die *AUC*-Werte mit dem Statistikprogramm SigmaPlot berechnet. Dabei wird die *AUC* in einzelne Trapeze unterteilt, deren Flächen nach der trapezoidalen Rechenregel ($\sum_{i=0}^{n-1} [y_i(x_{i+1}-x_i) + (1/2)(y_{i+1}-y_i)(x_{i+1}-x_i)]$) ermittelt und dann addiert werden. Als Ergebnis erhält man einen dimensional Zahlenwert. Die so berechneten Flächen wurden tabellarisch zusammengefasst und auf etwaige Signifikanzen zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe mithilfe des U-Tests nach MANN-WITHNEY überprüft. Der U-Test nach MANN-WITHNEY ist ein nicht-parametrischer Test und ermöglicht die statistische Auswertung von zwei unabhängigen Stichproben mit annähernder Normalverteilung. Für die deskriptive Statistik wurden der arithmetische Mittelwert, der Standardfehler des Mittelwertes, der Median, die Standardabweichung, die Varianz, die Spannweite, das Minimum und das Maximum sowie die Percentile berechnet und tabellarisch dargestellt. Anschließend erfolgte eine Überprüfung der *AUC*-Werte unter Ausschluss aller Ausreißer mit dem t-Test nach WELCH. Um die Signifikanzprüfung der Ergebnisse der Gesamtcalcium-Werte zu bestätigen, wurde zusätzlich ein Paarvergleich zwischen den untersuchten Parametern von Kontrollgruppe und supplementierten Gruppen mit dem verteilungsunabhängigen Rangsummentest nach WILCOXON mit SPSS durchgeführt. Dabei handelt es sich ebenfalls um einen nicht-parametrischen Test zum Vergleich verbundener Stichproben quantitativer Merkmale.

Als zusätzliche Darstellungsform für die berechneten *Areas under the curve* der einzelnen Gruppen wurden *Box-Whisker-Plots* ausgewählt. Die Box wird vom ersten und dritten Quartil

Material und Methoden

begrenzt und umfasst 50 % der Messwerte. Der Medianwert ist als breiter schwarzer Balken innerhalb dieser Box eingezeichnet. Die T-förmigen Linien ober- und unterhalb der Box, begrenzen die größten und kleinsten Werte des Parameters. Ausreißer (o) befinden sich 1.5 bis 3 Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Boxenrand. Falls Werte mehr als drei Boxenlängen von den entsprechenden Boxen entfernt sind, bezeichnet man sie als Extremwerte (*). Extremwerte wurden mit Ausnahme der Boxplots nicht in die graphischen Darstellungen miteinbezogen, da sie meist fehlerhaft und somit nicht aussagekräftig sind.

Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Tiere wurden nur *ante partum* in die statistischen Auswertungen mit einbezogen. Für alle Testentscheidungen wurde ein Signifikanzniveau von 5 % festgelegt.

4. ERGEBNISSE

Im Folgenden werden die Ergebnisse der beiden Versuche getrennt in zwei Abschnitten mit Hilfe von Dosis-Wirkungs-Kurven dargestellt und näher erläutert. Im ersten Teil werden die arithmetischen Mittelwerte der Serumelektrolyte der einzelnen Gruppen aus Experiment 1 (Exp. 1) dargestellt und in einem Diagramm miteinander verglichen. Im zweiten Teil folgt die statistische Auswertung der Ergebnisse jeder einzelnen Gruppe von Gesamtcalcium (Ca_{tot}) mithilfe der Standardabweichungen und den *Areas under the Curve (AUC)* in tabellarischer und graphischer Form. Im dritten Teil werden der Effekt einer $25(OH)D_3$ – Supplementation und dessen Wirkung auf die $1,25(OH)_2D_3$ – Konzentration graphisch dargestellt und statistisch ausgewertet. Im Anschluss daran werden dieselben Ergebnisse analog für Experiment 2 (Exp. 2) dargestellt. Festliegende (Festl.) bzw. gegen Hypocalcämie behandelte Kühe werden im ersten Teil der Auswertung miteinbezogen.

Von besonderem Interesse ist der Vergleich der Wirkung der einzelnen Dosierungen von $25(OH)D_3$ auf die Konzentration von Calcium (Ca), Magnesium (Mg) und Phosphat (P) im Plasma der hochträchtigen Kuh und während der ersten 10 Tage nach der Abkalbung. Dazu werden insbesondere die Auswirkungen einer $25(OH)D_3$ – Supplementation mit verschiedenen Dosierungen und unterschiedlicher Supplementationdauer auf die Serumelektrolyte untersucht.

Tab. 12: Übersicht der Tiere, die wegen Hypocalcämie oder Gebärparese mit einer Ca-Infusion behandelt wurden.

Dosis $25(OH)D_3$	Exp. 1 - Anzahl der Kühe		Exp. 2 - Anzahl der Kühe	
	Insgesamt	behandelte Kühe	Insgesamt	behandelte Kühe
Kontrolle	12	1	12	2
0.5 mg	12	4	-	-
1.0 mg	12	2	12	2
2.0 mg	12	6	12	2
4.0 mg	-	-	12	2

4.1 Elektrolyte – Experiment 1

4.1.1 Gesamtcalcium (Ca_{tot})

In Abb. 9 sind die Mittelwerte von Gesamtcalcium entsprechend den Dosierungen *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. *Ante partum* sind die jeweiligen Supplementationzeitpunkte beginnend mit dem 1. Supplementationstag (1. Supp) bis zum 22. Supplementationstag (22. Supp) abgebildet. Da nur bis zum 22. Supplementationstag annähernd alle Werte vorhanden sind, wurde hier eine Datenlücke zur besseren Darstellung

eingefügt. Sie soll zeigen, dass nach dem 22. Supplementationstag bis hin zur Abkalbung noch weitere Werte vorhanden, aber nicht aussagekräftig darstellbar sind. Der Grund für diese Datenlücke ist die unterschiedliche Zeitspanne, die jede einzelne Kuh vom ersten Tag der Supplementierung bis zur Abkalbung benötigte. Diese Zeitspanne schwankte von 7 bis 34 Tagen. *Post partum* konnten bei allen Kühen Blutproben entsprechend dem geplanten Zeitschema genommen werden. Der grau unterlegte Bereich gibt den Referenzbereich der Ca-Konzentration im Blut wieder.

Wie der Abb. 9 zu entnehmen ist, unterscheiden sich die Ca-Konzentrationen der einzelnen Dosierungen *ante partum* kaum voneinander. Sowohl die Ca-Konzentrationen der Kontrolltiere als auch der supplementierten Kühe verlaufen nahezu parallel an der Untergrenze des Referenzbereiches bei 2.25 mmol/l (Abb. 9). Zum Geburtszeitpunkt fallen die Werte aller Dosierungen stark ab.

Vergleich der in Abb. 9 dargestellten Diagramme:

Abb. 9 oben: In diesem Diagramm sind die Ca_{tot} -Mittelwerte der Dosierungsgruppen einschließlich, der aufgrund von Hypocalcämie *p.p.* mit Calcium behandelten Tiere dargestellt. Die Verlaufskurve der Kontrolltiere und der 1.0 mg-Gruppe liegen bei Abkalbung mit 1.85 mmol/l gleich auf. Die Tiere, die mit 0.5 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden waren, hatten im Mittel mit 1.78 mmol/l die niedrigste Ca-Konzentration, während die Gruppe, die mit 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, mit 1.92 mmol/l die höchste Ca-Konzentration aufwies. Die Abweichung von 0.14 mmol/l zwischen höchster und niedrigster 25(OH)D₃ – Dosierung war somit nicht signifikant.

Post partum lagen alle Verlaufskurven unterhalb des Referenzbereiches und verhielten sich weiterhin annähernd identisch zueinander. Alle Kurven erreichten den Tiefpunkt der Gesamtcalciumkonzentration 24 h *p.p.* Danach war wieder ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentrationen bis auf das Niveau der Werte, wie sie sich *ante partum* dargestellt hatten, zu verzeichnen. Die Gruppe, die mit 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, fiel im Mittel mit 1.58 mmol/l am weitesten ab. Danach erfolgte ein kontinuierlicher Anstieg bis auf die Ebene der Kontrollkurve. Etwas unterschiedlich zu den übrigen Ergebnissen stellte sich die Gruppe der Tiere dar, die mit 0.5 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden waren. Hier schien eine stärkere Mobilisierungsfähigkeit des Ca-Stoffwechsels gegeben zu sein, da die Gesamtcalciumkonzentration schon 12 h *p.p.* wieder bis auf 1.85 mmol/l angestiegen war. Danach ergab sich wieder ein Abfall auf 1.75 mmol/l 24 h *p.p.* Diese Gruppe verzeichnete außerdem die höchste Gesamtcalciumkonzentration 7 d *p.p.* (2.30 mmol/l).

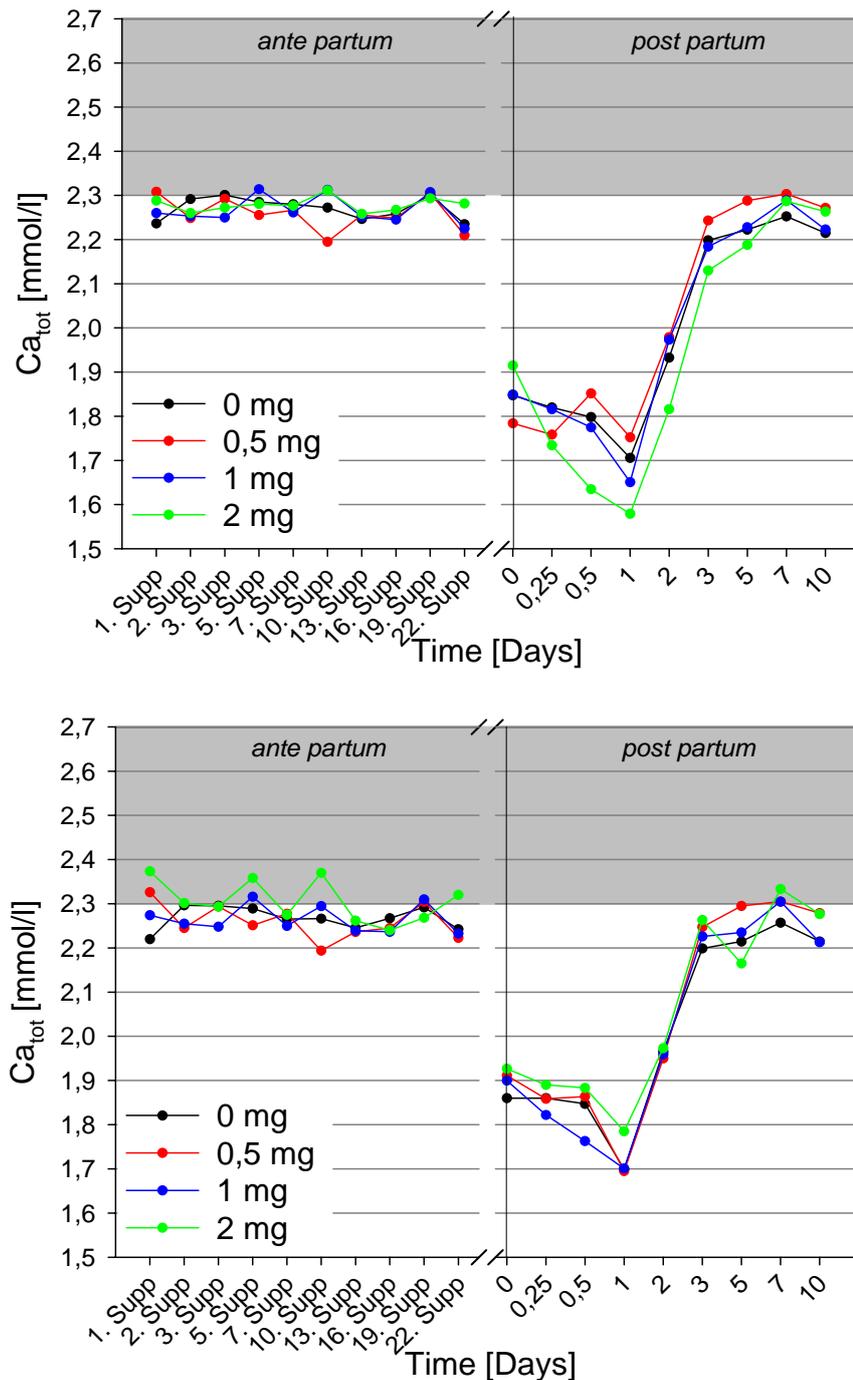


Abb. 9: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentrationen (Ca_{tot}) bei allen Tieren (oben) und ohne die Tiere, die eine Hypocalcämie-Behandlung erhalten hatten (unten) von vier Gruppen mit unterschiedlichen $25(OH)D_3$ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Abb. 9 unten: In diesem Diagramm sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen von Gesamtcalcium ohne die aufgrund von Hypocalcämie behandelten Tiere dargestellt. Dabei war ersichtlich, dass die Kontrollgruppe mit 1.86 mmol/l zum Zeitpunkt der Geburt die niedrigste Ca-Konzentration im Gruppenvergleich aufwies. Die 2.0 mg-Gruppe war fast im

Ergebnisse

gesamten Kurvenverlauf sowohl *ante* als auch *post partum* deutlich höher als die anderen Gruppen. 24 h *p.p.* fielen alle Gruppen mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe auf 1.70 mmol/l ab. Allen Gruppen gemeinsam war der geringste Wert 24 h *p.p.* und die höchste Konzentration 7 Tage *post partum*. In Abb. 9 oben ergaben sich zwischen den höchsten (0.5 mg-Gruppe, 2.30 mmol/l) und den tiefsten (Kontrollgruppe, 2.25 mmol/l) Werten nach 7 Tagen *post partum* nur minimale und nicht signifikante Unterschiede. In Abb. 9 unten weisen wiederum alle supplementierten Gruppen einen höheren Ca-Wert auf als die Kontrollgruppe.

4.1.2 Gesamtmagnesium (Mg_{tot})

In Abb. 10 sind die Mittelwerte der einzelnen Dosierungen von Gesamtmagnesium *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Im Gegensatz zu den Gesamtcalciumkonzentrationen verliefen die Gesamtmagnesiumwerte nahezu vollständig innerhalb des Referenzbereiches. Der Kurvenverlauf von Mg_{tot} verlief reziprok zu Ca_{tot} .

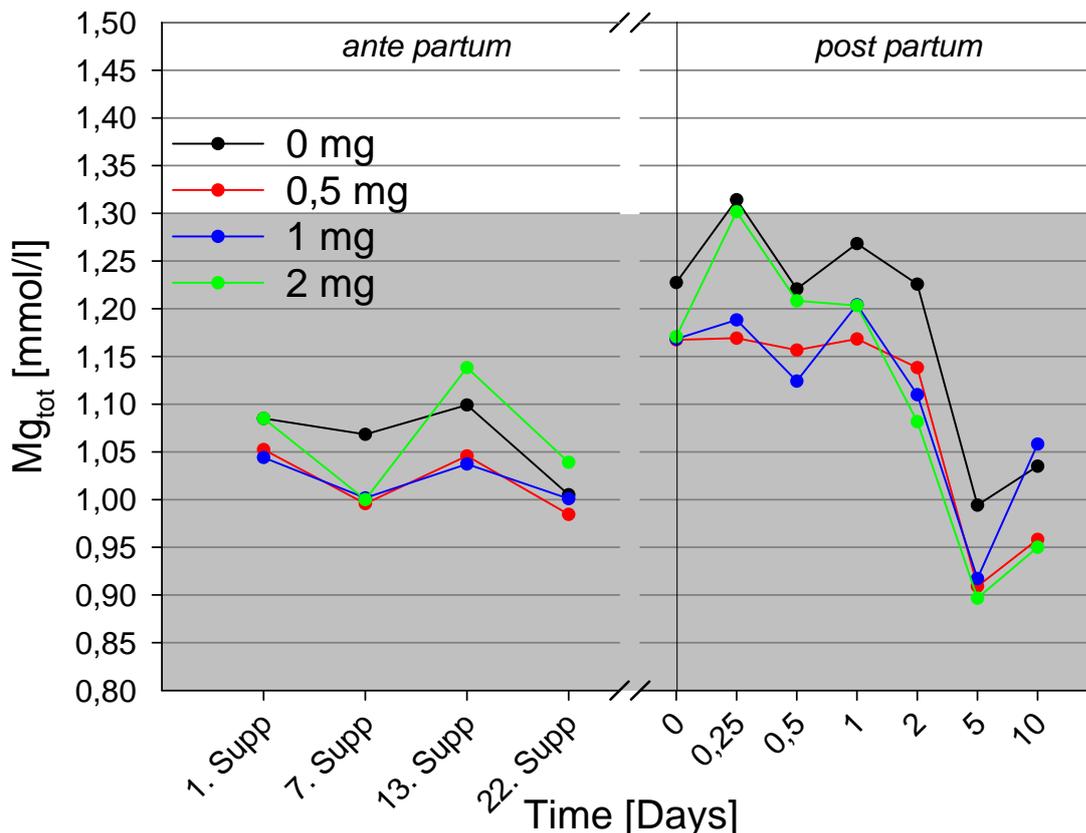


Abb. 10: Mittelwerte der Gesamtmagnesiumkonzentrationen (Mg_{tot}) von vier Gruppen à 12 Tieren mit unterschiedlichen $25(OH)D_3$ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Mg_{tot} wurde grau unterlegt.

Auch hier waren *ante partum* keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Dosisabhängige Veränderungen der Mg-Konzentrationen ergaben sich nicht. Es war *ante partum* ein nahezu paralleler Kurvenverlauf bei 1.05 mmol/l festzustellen (Abb. 10). Bei und nach der Abkalbung

stiegen die Werte aller Dosierungen erheblich an. Die Kontrollkurve hob sich von den übrigen Kurven bei der Abkalbung mit 1.23 mmol/l ein wenig ab. Die restlichen drei Gruppen, die mit 25(OH)D₃ supplementiert worden waren, wiesen bei der Abkalbung eine identische Gesamtmagnesiumkonzentration von 1.17 mmol/l auf. Die Maximalwerte wurden mit Ausnahme der 1.0 mg-Gruppe 6 h *p.p.* erreicht. Fünf Tage *post partum* fiel die Gesamtmagnesiumkonzentration bei allen Gruppen auf den tiefsten Wert ab.

4.1.3 Phosphat (P)

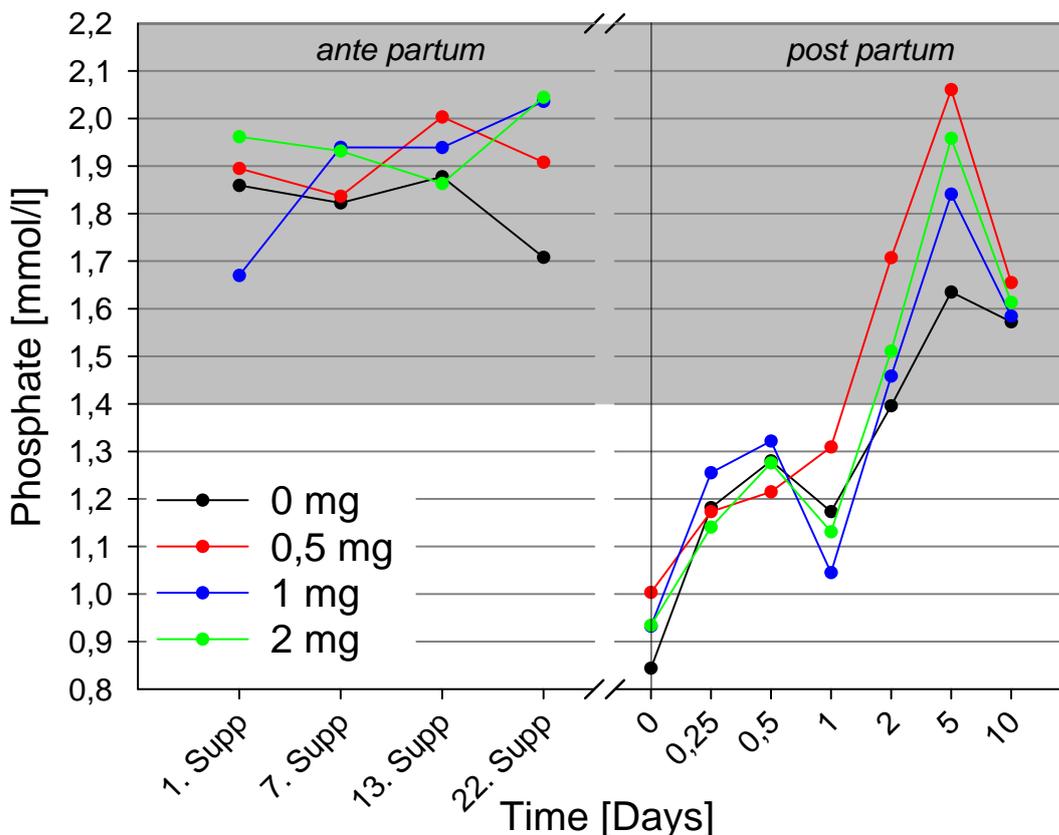


Abb. 11: Mittelwerte der Phosphatkonzentrationen (P) von vier Gruppen à 12 Tieren mit unterschiedlichen Dosierungen. Der Referenzbereich von P wurde grau unterlegt.

In Abb. 11 sind die Mittelwerte der Phosphat – Konzentration *ante* und *post partum* für jede Dosierungsgruppe in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Wie in Abb. 11 ersichtlich ist, gab es bei den Phosphatmittelwerten aller Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Der Kurvenverlauf bewegte sich *ante partum* vollständig innerhalb des Referenzbereiches bei ungefähr 1.90 mmol/l. Erwähnenswert ist vielleicht noch der eigenwillige Kurvenverlauf der 1.0 mg-Gruppe, die zu Beginn der Supplementation als einzige Gruppe mit 1.67 mmol/l einen niedrigeren Phosphatwert aufwies als die Kontrollgruppe (1.86 mmol/l), aber bis zum 22. Tag der Supplementation auf den höchsten Wert mit 2.04 mmol/l anstieg. Der starke

Abfall zum Zeitpunkt der Geburt analog der Ca-Konzentration ist ein bekanntes Phänomen; die Phosphat – Konzentrationen der supplementierten Gruppen lagen hier jedoch mit Werten von 0.93 - 1.00 mmol/l alle über dem Niveau der Kontrollgruppe (0.84 mmol/l). Bis auf die Gruppe, die mit 0.5 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, fielen alle Phosphat-Konzentrationen 24 h *p.p.* nochmals ab, bevor sie am 5. Tag *post partum* alle ihr Maximum mit Werten von 1.84 - 2.06 mmol/l erreichten. Alle supplementierten Gruppen wiesen gegenüber der Kontrolle (1.64 mmol/l) höhere Konzentrationen auf, die jedoch nicht signifikant waren.

4.1.4 Variabilität von Ca_{tot}

Im folgenden Abschnitt werden die Ca_{tot}-Mittelwerte und deren Standardabweichung der unterschiedlich supplementierten Gruppen separat dargestellt. Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Kühe wurden dabei ausgeschlossen.

Abb. 12 - Abb. 15 zeigen den Zusammenhang zwischen den arithmetischen Ca_{tot}-Mittelwerten, deren Standardabweichung und dem *peripartalen* Verlauf des Calcium-Stoffwechsels. Auf der x-Achse können die Tage der Supplementation bis zur Abkalbung und anschließend die Tage nach der Abkalbung bis zum 10. Tag *post partum* abgelesen werden. Wie schon im vorangegangenen Teil erklärt, wurden auch hier Datenlücken zur besseren Ergebnispräsentation eingefügt. Auf der y-Achse sind die Ca_{tot}-Mittelwerte in mmol/l an den jeweiligen Supplementationstagen aufgetragen. Der grau unterlegte Bereich gibt den Referenzbereich der Ca-Konzentration im Blut wieder.

4.1.4.1 Kontrollgruppe

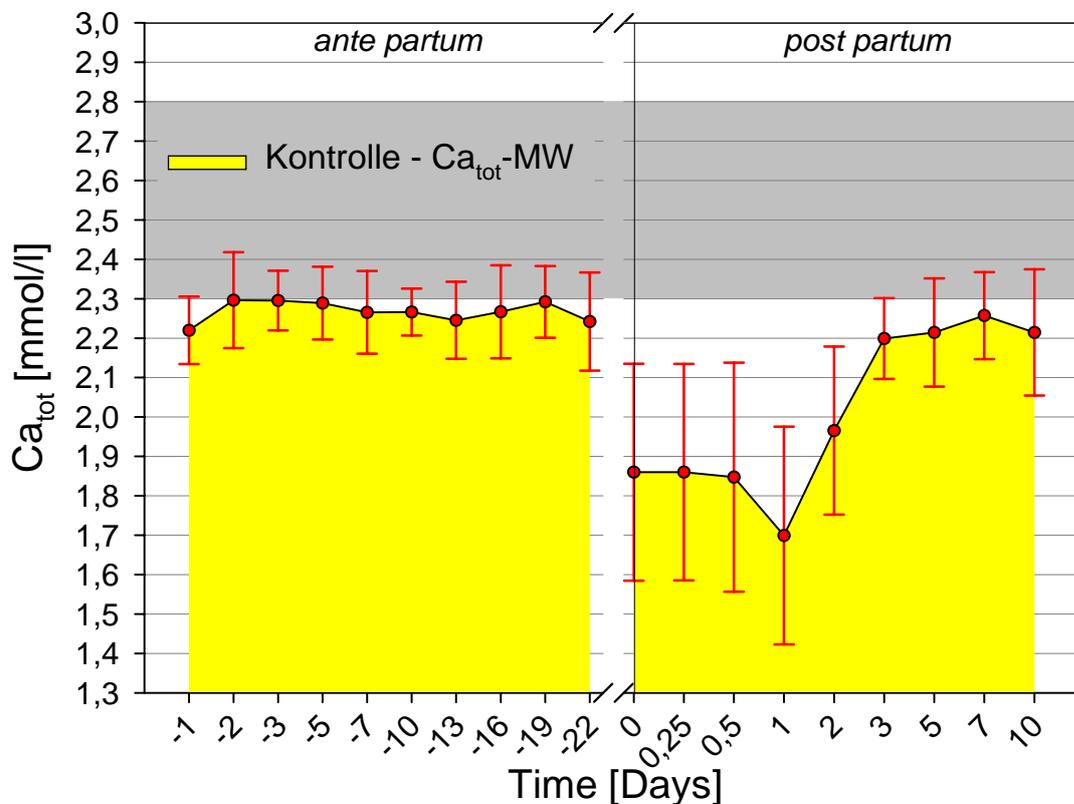


Abb. 12: Mittelwerte (MW) und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der Kontrollgruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Bei dieser Gruppe konnte vor allem um den Geburtszeitraum eine große Streuung zwischen den einzelnen Ca_{tot} -Werten beobachtet werden (Abb. 12). Während sich *ante partum* nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.10 ergab und die geringste Streuung am 10. Tag (bezogen auf die Supplementation) beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.28. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.14. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.08. Ein Tier musste aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

4.1.4.2 Supplementation mit 0.5 mg 25(OH) D_3

Wie man schon bei der Kontrollgruppe feststellen konnte, gab es auch bei dieser Gruppe ab dem Zeitpunkt der Abkalbung bis 48 h *p.p.* eine große Streuung zwischen den einzelnen Ca_{tot} -Werten (Abb. 13).

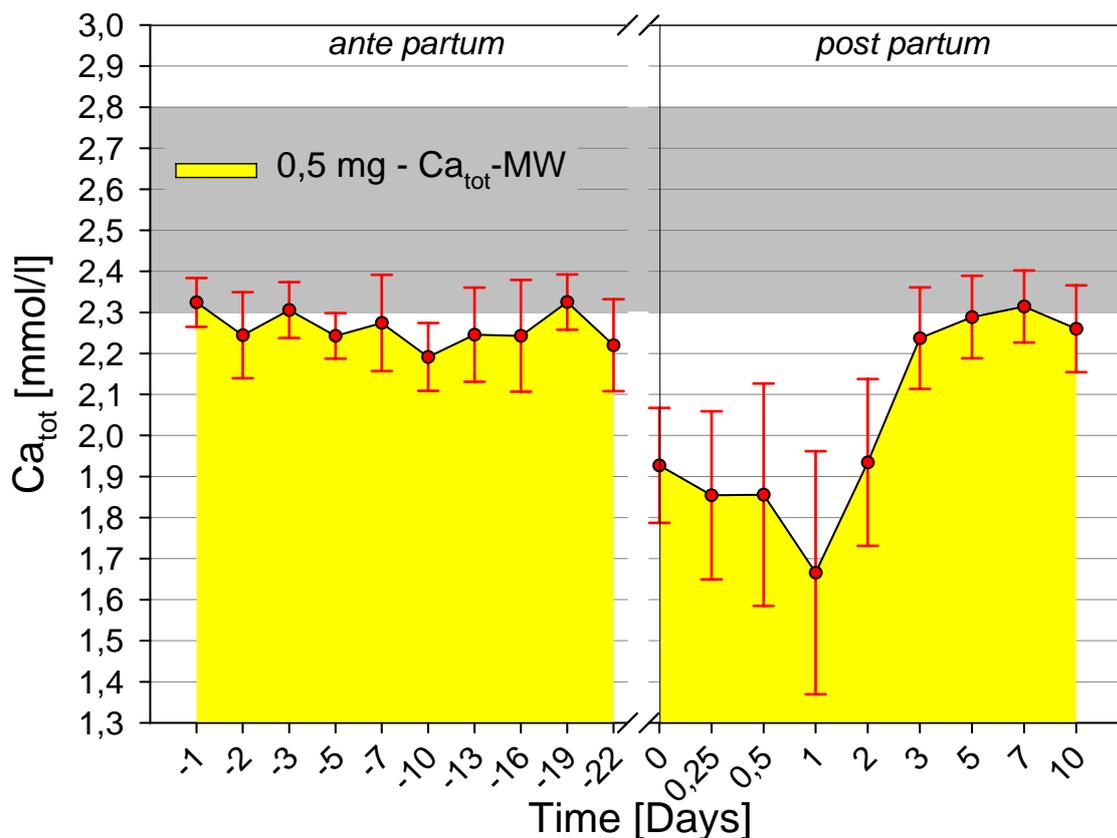


Abb. 13: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 0.5 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Während sich *ante partum* nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.09 ergab und die geringste Streuung am 5. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.23. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.12.

Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.07. Vier Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

4.1.4.3 Supplementation mit 1.0 mg 25(OH)D₃

Während sich *ante partum* (Abb. 14) nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.10 ergab und die geringste Streuung am 22. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung auf 0.33 6 Stunden bzw. auf 0.27 24 Stunden nach der Abkalbung. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.16. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug

insgesamt 0.08. Zwei Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

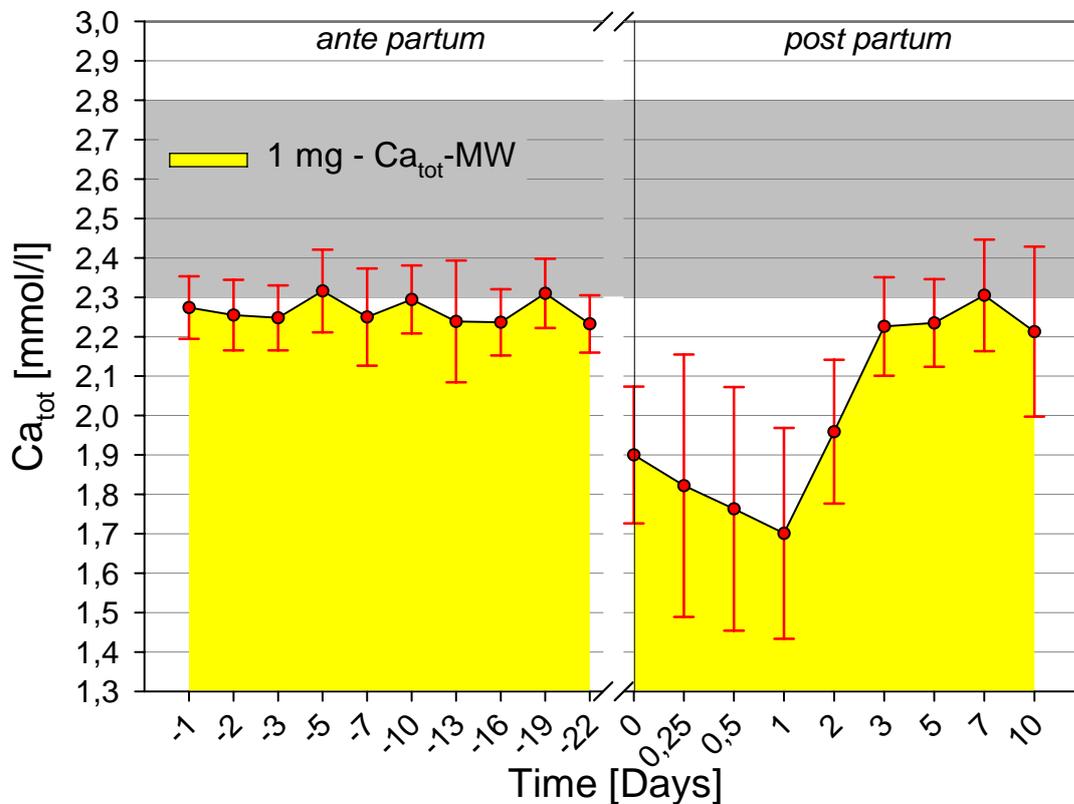


Abb. 14: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 1.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt

4.1.4.4 Supplementation mit 2.0 mg 25(OH) D_3

Wie bei den anderen Gruppen schon festgestellt wurde, war um den Geburtszeitraum eine große Streuung der Ca_{tot} -Werte zu beobachten (Abb. 14). Während sich *ante partum* nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.11 ergab und die geringste Streuung am 22. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.28. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.12. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.08. Sechs Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

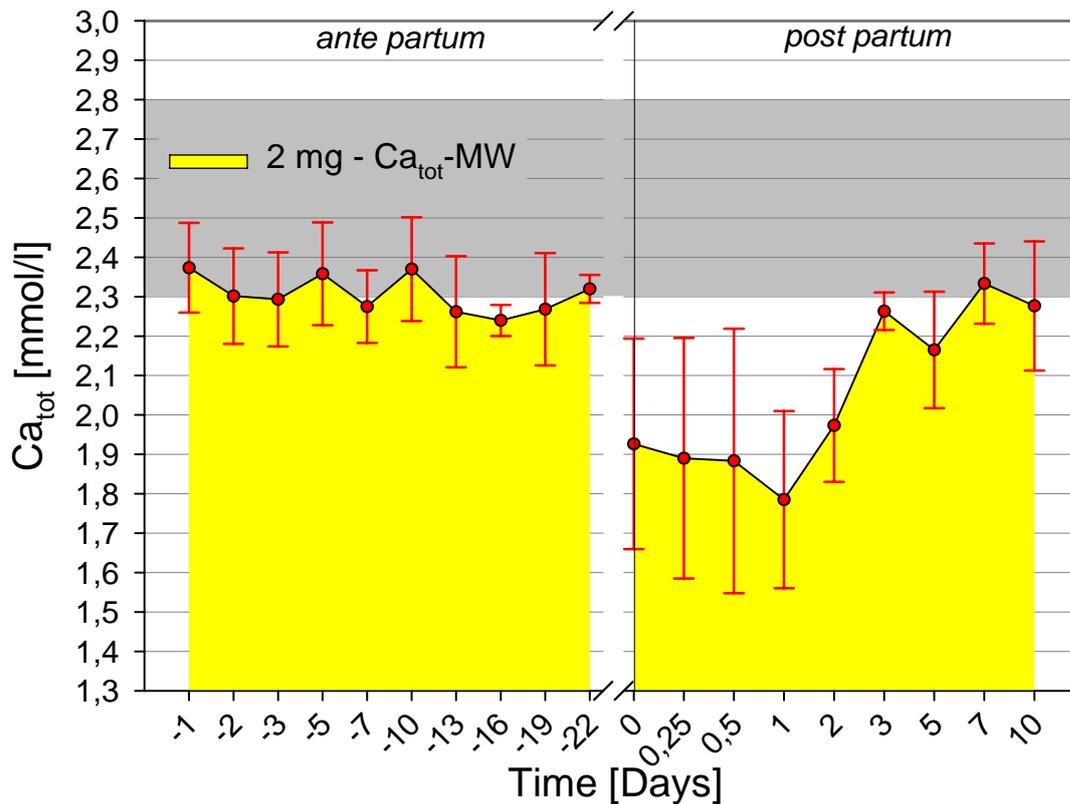


Abb. 15: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 2.0 mg-Gruppe und deren Standardabweichung. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

4.1.5 Die Standardabweichung von Ca_{tot} im Gruppenvergleich

Wie schon in Abb. 9 festgestellt wurde, sind bei einem Vergleich der Gruppen im Kurvenverlauf kaum Unterschiede zu sehen.

Im Folgenden sind die bisherigen Ergebnisse zur Standardabweichung der Ca_{tot} -Mittelwerte der einzelnen Gruppen zum direkten Vergleich in einer Tabelle (Tab. 13) zusammengefasst.

Tab. 13: Mittelwerte der einzelnen Standardabweichungen von Ca_{tot} [mmol/l].

Gruppe	Mittel a.p.	Mittel 0 h - 24 h p.p.	Mittel 48 h - 10 d p.p.	Min	Max	Gesamt
0 mg	0,10	0,28	0,14	0,06	0,29	0,08
0.5 mg	0,09	0,23	0,12	0,06	0,30	0,07
1 mg	0,10	0,27	0,16	0,07	0,33	0,08
2 mg	0,11	0,28	0,12	0,04	0,34	0,08

Ante partum ergab sich bei allen Gruppen mit 0.09 - 0.11 eine geringere Standardabweichung als *post partum*. Betrachtet man den Zeitraum von der Abkalbung bis 24 h p.p.

getrennt von den darauf folgenden Zeitpunkten, so war in diesem Zeitfenster eine deutlich höhere Standardabweichung mit 0.23 - 0.28 festzustellen. Ab dem 2. Tag *post partum* pendelte sich die Standardabweichung bei 0.12 - 0.16 ein, was ungefähr den Werten *ante partum* entsprach. Die geringsten Standardabweichungen mit 0.04 - 0.07 waren bei jeder Gruppe an unterschiedlichen Zeitpunkten festzustellen, jedoch immer *ante partum*. Die größten Abweichungen mit 0.29 - 0.34 konnten bei allen Gruppen nach 6 - 24 h *p.p.* beobachtet werden. Im gesamten Zeitraum ergab sich eine Standardabweichung von 0.07 - 0.08.

Innerhalb der einzelnen Gruppen gab es bei Betrachtung der Einzeltiere im Kurvenverlauf der Ca_{tot} -Werte erhebliche Unterschiede. Um diese Unterschiede besser zu veranschaulichen, sind in den Diagrammen der Abb. 16 – Abb. 17 die *Areas under the curve* von ausgewählten Tieren (bester und schlechtester Kuh aus jeder Gruppe) in einer Dosis-Wirkungs-Kurve graphisch dargestellt.

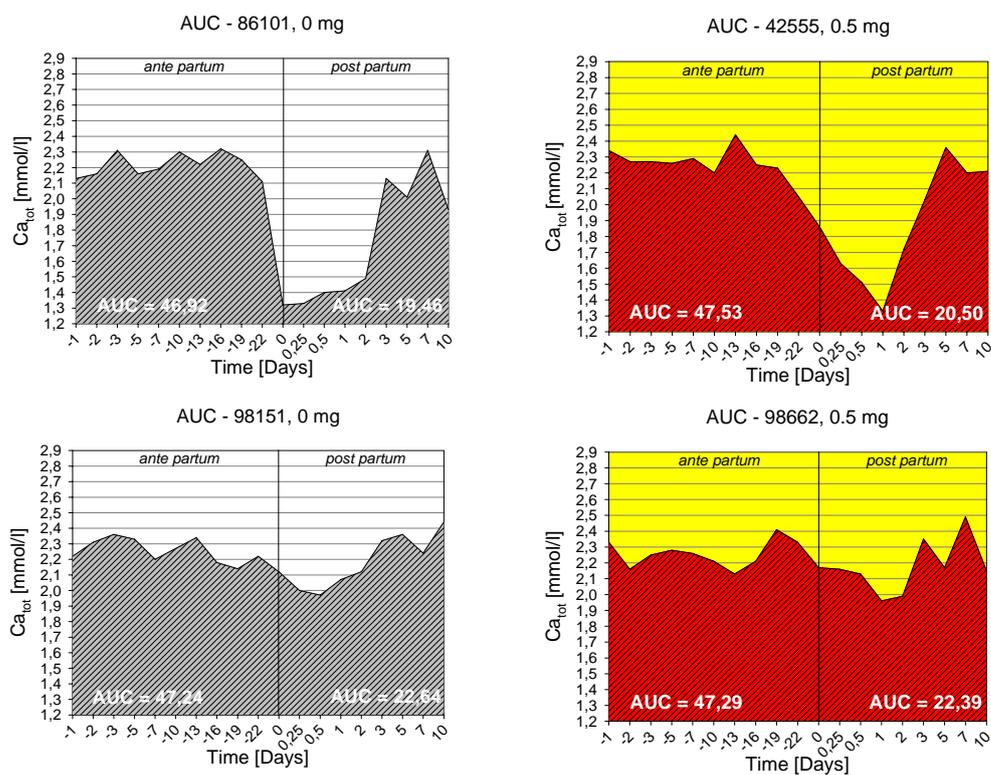


Abb. 16: Darstellung der *Areas under the curve* (schraffierter Bereich) von Ca_{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der Kontrollgruppe (links) und der 0.5 mg-Gruppe (rechts).

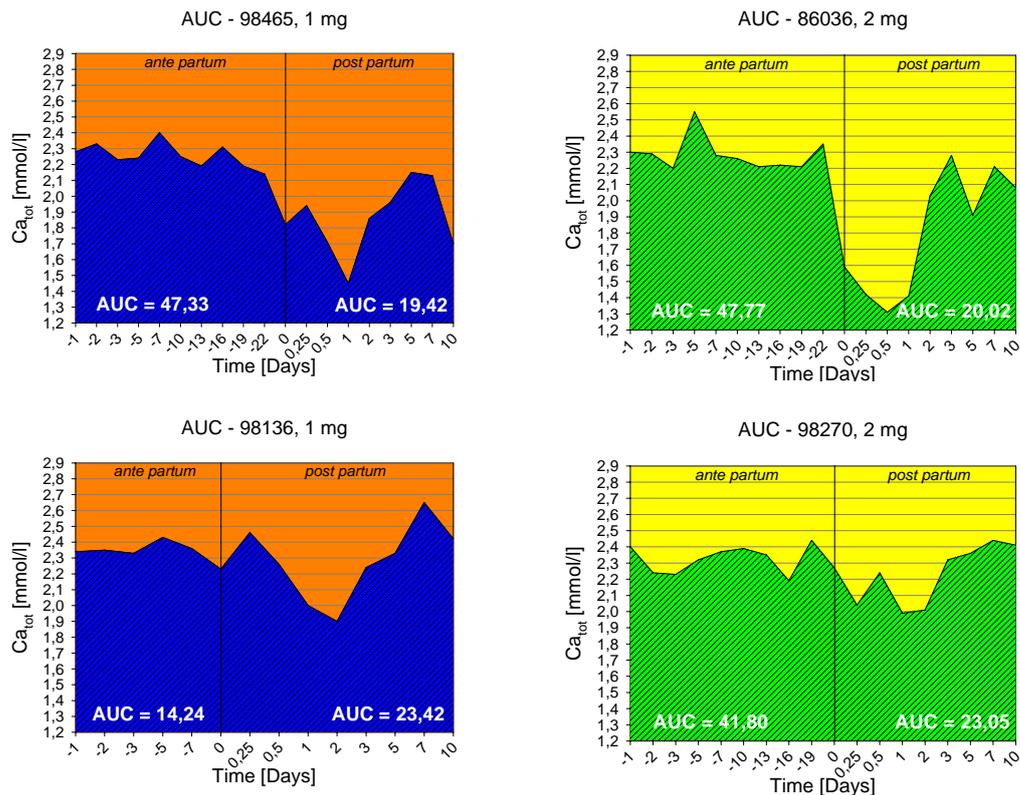


Abb. 17: Darstellung der *Areas under the curve* (schraffierter Bereich) von Ca_{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der 1.0 mg-Gruppe (links) und der 2.0 mg-Gruppe (rechts).

4.1.6 AUC der Ca_{tot} -Mittelwerte im Gruppenvergleich

Um insgesamt auch noch alle Gruppen miteinander zu vergleichen, sind nachfolgend zu den AUC-Werten der Einzeltiere (Abb. 16 und Abb. 17) nun abschließend in Abb. 18 und Abb. 19 der Vergleich der gesamten Gruppe anhand der *Areas under the curve* der Ca_{tot} -Mittelwerte dargestellt. Die statistische Auswertung mithilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests und des t-Tests nach WELCH ergab auch in diesem Fall keine signifikanten Unterschiede. Wie aus Tab. 14 zu entnehmen ist, liegen auch alle AUC-Mittelwerte in etwa auf gleicher Höhe. Unterschiedlich dazu stellte sich die 1.0 mg-Gruppe dar, bei der nahezu alle anderen Werte im Vergleich zu den anderen Gruppen abwichen. Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Kühe wurden dabei ausgeschlossen.

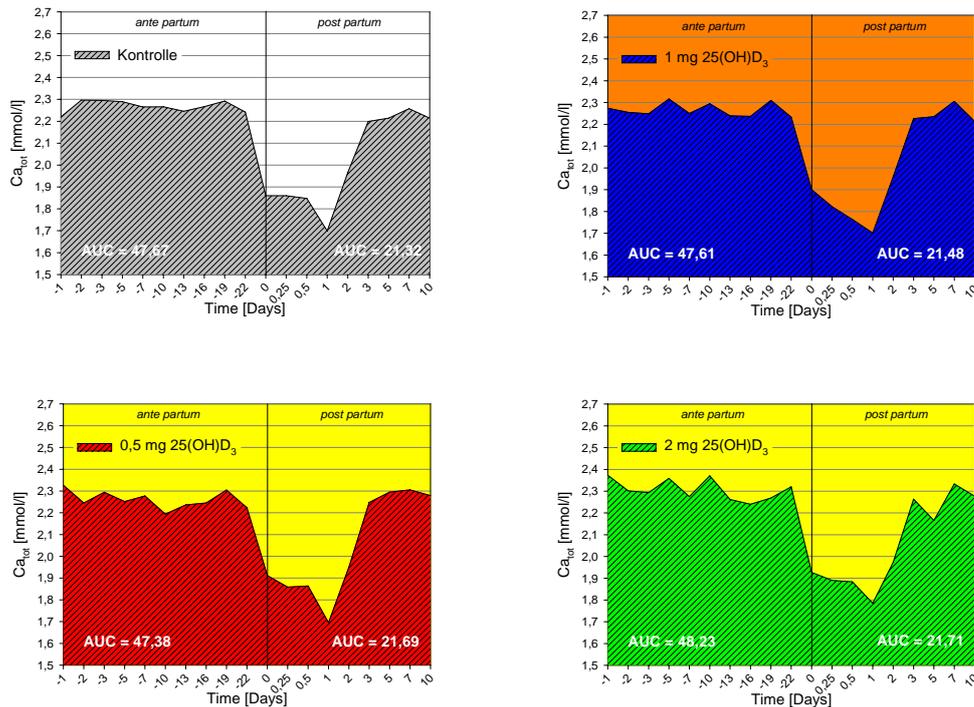


Abb. 18: Darstellung der *Areas under the curve* der Ca_{tot} -Mittelwerte der einzelnen Gruppen.

4.1.7 Zusammenfassung der Ergebnisse von Ca_{tot}

Wie schon in Abb. 9 dargestellt wurde, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ca-Konzentrationen der einzelnen Gruppen. Sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den supplementierten Gruppen befanden sich alle Ca-Konzentrationen unterhalb des Referenzbereiches. Die Ca_{tot} -Werte ergaben *ante partum* einen Mittelwert von 2.28 mmol/l. Bei der Abkalbung fiel der Gesamtcalciumgehalt stark ab und erreichte sein Minimum 24 h *p.p.*, mit einem durchschnittlichen Wert von 1.69 - 1.79 mmol/l (exkl. behandelte Tiere, ebT) bzw. 1.58 - 1.75 mmol/l (inkl. behandelte Tiere, ibT). Danach war der Organismus der Kühe wieder in der Lage, ausreichend Calcium bereitzustellen. Sieben Tage *post partum* wurden Maximalwerte von 2.26 - 2.33 mmol/l (ebT) bzw. 2.25 - 2.30 mmol/l (ibT) erreicht. Zusätzlich zu den Dosis-Wirkungs-Kurven der einzelnen Gruppen wurde eine statistische Auswertung der Ergebnisse durchgeführt. Zur Datenauswertung wurden zunächst die Standardabweichungen für jede Gruppe berechnet und graphisch sowie tabellarisch dargestellt. Bei den Standardabweichungen war *peripartal* eine größere Streuung zu beobachten, als zu den übrigen Zeitpunkten (Tab. 13). Die geringsten Standardabweichungen mit 0.04 - 0.07 waren je nach Gruppe an unterschiedlichen Zeitpunkten

Ergebnisse

festzustellen, jedoch immer *ante partum*. Die größten Abweichungen wurden mit 0.29 - 0.34 bei allen Gruppen, 6 -24 h *p.p.* gefunden. Im gesamten Beobachtungszeitraum ergab sich eine Standardabweichung von 0.07 - 0.08.

Zusätzlich wurde für jedes einzelne Tier die *AUC* mit SigmaPlot graphisch gezeichnet und berechnet. Mit Hilfe der einzelnen *AUC*-Werte wurden anschließend Gruppenvergleiche durchgeführt und graphisch dargestellt.

In den folgenden Tab. 14 und Abb. 19 sind diese Ergebnisse der statistischen Auswertung, die mit dem Computerprogramm SPSS 15.0 erstellt wurden, dargestellt.

Tab. 14: Vergleich der *AUC*-Werte von Ca_{tot} zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 18 und Abb. 19).

Gruppe	0mg	0.5mg	1mg	2mg
Tierzahl ohne Festl.	11	7	10	6
Mittelwert	18,97	20,30	19,70	20,42
Standardfehler des MW	1,27	1,21	0,83	1,56
Median	20,06	20,54	19,29	19,69
Standardabweichung	4,21	3,21	2,63	3,82
Varianz	17,72	10,29	6,93	14,56
Spannweite	12,87	8,61	9,60	10,41
Min	10,27	15,99	15,65	15,59
Max	23,14	24,60	25,25	26,00
25%	16,19	17,36	18,20	17,56
50%	20,06	20,54	19,29	19,69
75%	22,65	23,84	21,07	24,01

Durch die Berechnung der AUC -Werte von Ca_{tot} der supplementierten Gruppen ergaben sich keine Signifikanzen im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abb. 19). Auch aus Tab. 14 sind keine relevanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe zu entnehmen. Die statistischen Auswertungen nach MANN-WITHNEY, nach WELCH und WILCOXON ergaben nur geringfügig signifikante Unterschiede am 1., 10.- und 22. Tag der Supplementation, sowie am 3. Tag *post partum* zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe. An den übrigen Versuchszeitpunkten konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Vergleich der AUC -Werte von Gesamtcalcium

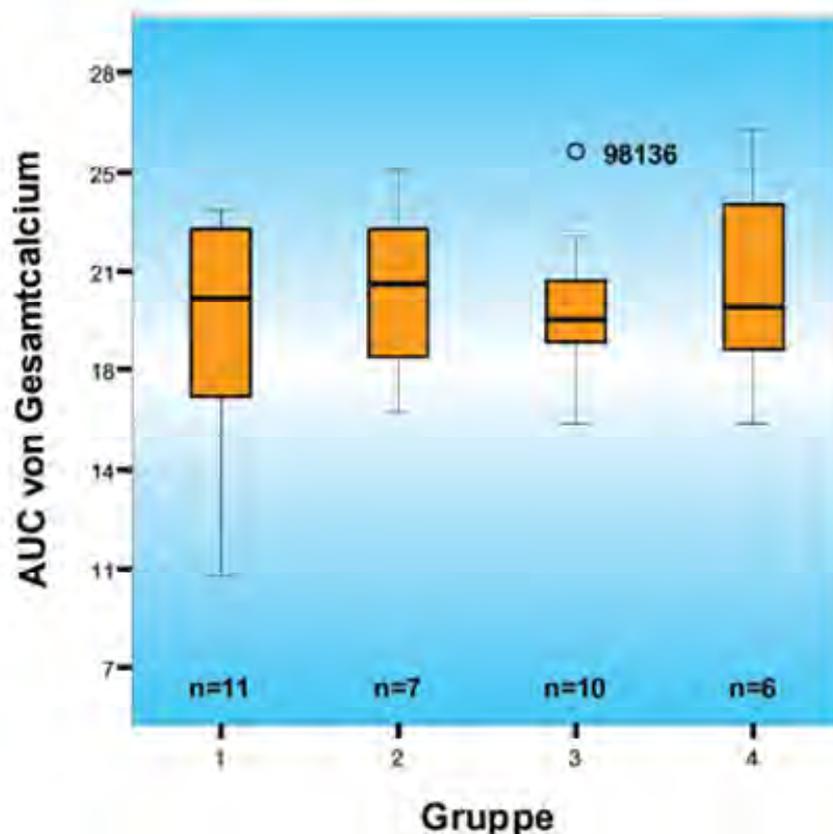


Abb. 19: Vergleich der AUC -Werte (Boxplots) von Ca_{tot} zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer) vom 1. bis zum 22. Supplementationstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 18 und Tab. 14)].

4.2 Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D₃

In Abb. 20 sind die Mittelwerte der einzelnen Dosierungen von 25(OH)D₃ *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit abgebildet. Dabei wurde zusätzlich der Einfluss der behandelten Kühe aufgrund einer Hypocalcämie auf die Mittelwerte von 25(OH)D₃ vergleichend dargestellt.

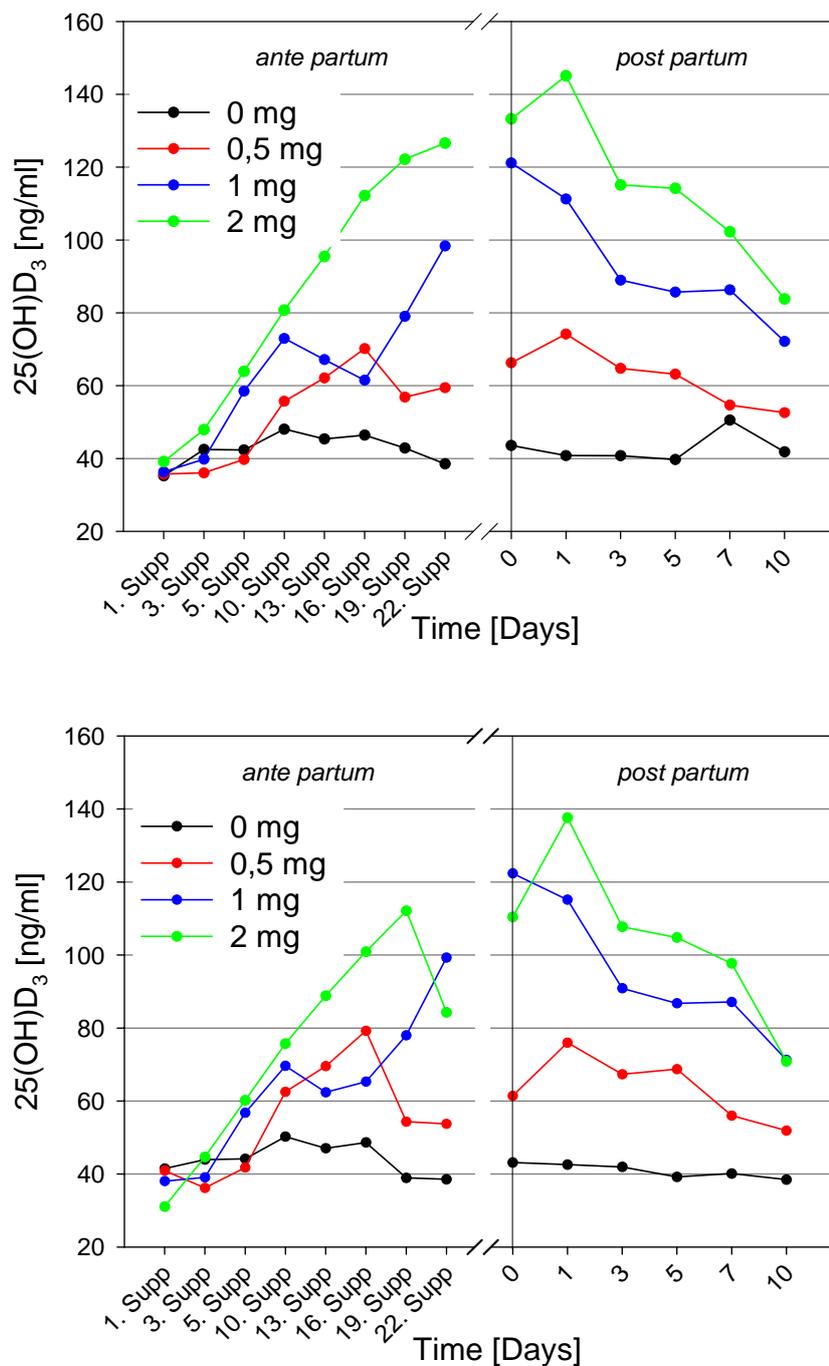


Abb. 20: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.

Dabei ist festzustellen, dass sich die Mittelwerte von 25(OH)D₃ der einzelnen Dosierungen *ante partum* deutlich voneinander unterscheiden. Am 1. Supplementationstag waren die Werte bei allen Dosierungen nahezu identisch (Abb. 20). Mit zunehmender Supplementationdauer und -menge erhöhte sich auch die Konzentration von 25(OH)D₃ im Blut.

Vergleich der in Abb. 20 dargestellten Diagramme:

Abb. 20 oben: Während die Konzentration bei der Gruppe, die mit 2.0 mg supplementiert wurde, kontinuierlich anstieg, war bei den anderen Gruppen zwischen dem 10.-19. Supplementationstag ein Konzentrationsabfall zu beobachten. Ab dem 19. Tag der Supplementation stieg nur noch die Konzentration der 1.0 mg-Gruppe kontinuierlich an. Die Werte blieben jedoch deutlich über dem Niveau der *antepartalen* Ausgangswerte. Je höher die supplementierte Dosis von 25(OH)D₃, desto größer wurde der Unterschied zur Kontrolle (Abb. 20 und Tab. 16). Zum Zeitpunkt der Geburt waren bei den Mittelwerten somit deutlich signifikante Unterschiede zu erkennen (Tab. 16). Bei den Kontrolltieren ergab sich zum Zeitpunkt der Geburt mit 43.59 ng/ml die niedrigste 25(OH)D₃ – Konzentration, während die Gruppe, die mit 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, mit 133.25 ng/ml die höchste 25(OH)D₃ – Konzentration aufwies. Mit einem Unterschied zwischen höchster und niedrigster 25(OH)D₃ – Konzentration von 89.66 ng/ml wurde ein deutlich signifikanter Unterschied nachgewiesen (Abb. 21. und Abb. 22).

Abb. 20 unten: Auch bei Betrachtung der Mittelwerte ausschließlich unbehandelter Tiere stieg die Konzentration bei der Gruppe, die mit 2.0 mg supplementiert worden war, kontinuierlich an. Ab dem 19. Supplementationstag war bei dieser Gruppe ein starker Konzentrationsabfall zu beobachten, der sich bis zur Abkalbung jedoch wieder stabilisierte. Nahezu identisch, jedoch auf niedrigerem Niveau, stellte sich der Kurvenverlauf der 0.5 mg-Gruppe dar. Ab dem 19. Tag der Supplementation stieg nur noch die Konzentration der 1.0 mg-Gruppe kontinuierlich an. Die Werte blieben aber mit Ausnahme der Kontrollgruppe deutlich über dem Niveau der *antepartalen* Ausgangswerte. Je höher die supplementierte Dosis von 25(OH)D₃, desto größer war der Unterschied zur Kontrolle (Abb. 20). Zum Zeitpunkt der Geburt waren somit auch bei dieser Betrachtung der Mittelwerte deutlich signifikante Unterschiede zu erkennen. Bei den Kontrolltieren ergab sich zum Zeitpunkt der Geburt mit 43.18 ng/ml die niedrigste 25(OH)D₃ – Konzentration, während die Gruppe, die mit 1.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, mit 122.37 ng/ml die höchste 25(OH)D₃ – Konzentration aufwies. Mit einem Unterschied zwischen höchster und niedrigster 25(OH)D₃ – Konzentration von 79.19 ng/ml wurde auch hier ein deutlich signifikanter Unterschied nachgewiesen (Abb. 21 und Abb. 22).

Ergebnisse

Zum Geburtszeitpunkt stiegen die Werte mit zunehmender 25(OH)D₃ – Dosierung erheblich an (Abb. 21). Nach der Abkalbung verringerte sich die 25(OH)D₃ – Konzentration der Kontrollgruppe und der mit 1.0 mg 25(OH)D₃ supplementierten Gruppe, während sie bei der mit 0.5 mg und 2.0 mg supplementierten Gruppe stetig zunahm. 24 h *p.p.* wurde bei den zuletzt genannten Gruppen das Maximum erreicht. Danach fielen die 25(OH)D₃ – Konzentrationen der supplementierten Gruppen ab (Tab. 16 und Abb. 21). Die Werte blieben aber mit Ausnahme der Kontrollgruppe deutlich über dem Niveau der *antepartalen* Ausgangswerte vor Beginn der Supplementation.

4.2.1 Statistische Auswertung von Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D₃

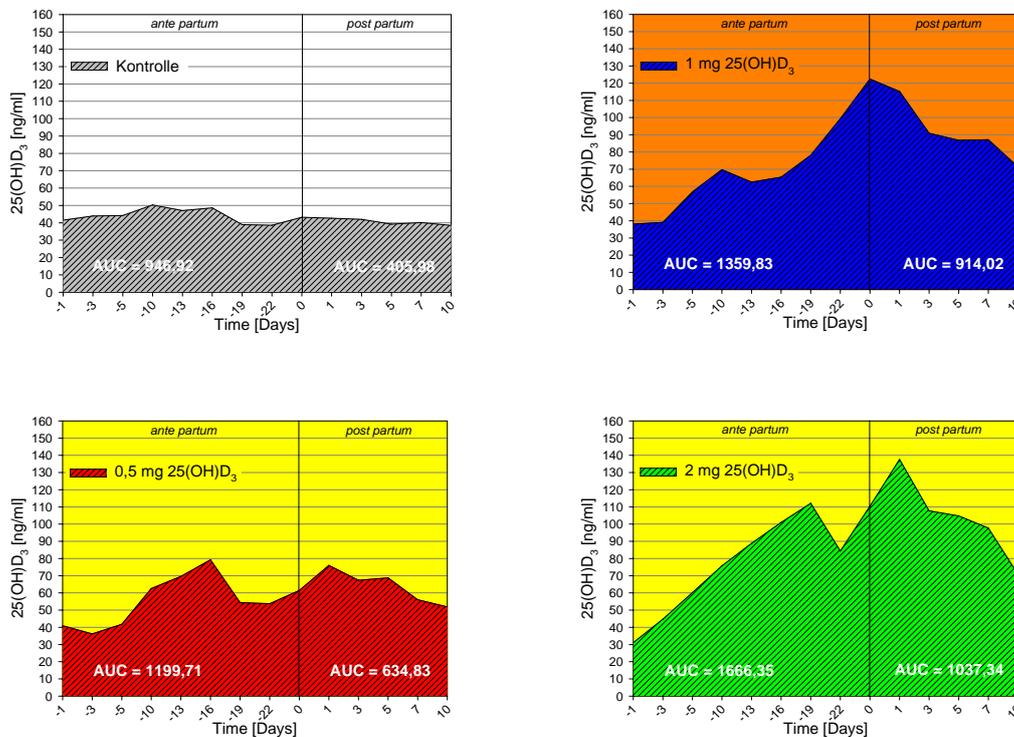


Abb. 21: Darstellung der AUC-Werte (schraffierter Bereich) von 25(OH)D₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Erkenntnisse aus der graphischen Darstellung (Abb. 20), wurden mit dem MANN-WITHNEY-U-Test geprüft. Die statistische Analyse (Abb. 21) ergab, mit Ausnahme der mit 0.5 mg supplementierten Gruppe, signifikante Unterschiede zwischen den supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch durch die statistische Überprüfung der

25(OH)D₃ – Mittelwerte (Abb. 20) und der errechneten *AUC*-Werte (Abb. 21) mit dem t-Test nach WELCH konnten bei der 1.0 mg- und 2.0 mg-Gruppe an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Entsprechend der Dosierung ergaben sich z.T. deutlich höhere 25(OH)D₃ – Konzentrationen (siehe Abb. 20). Während der Supplementation bis 24 h *p.p.* war ein kontinuierlicher Anstieg der 25(OH)D₃ – Konzentration zu beobachten. Unmittelbar danach kam es zu einem plötzlichen Abfall bis zu den Minimalwerten. Je höher die supplementierte Dosis von 25(OH)D₃, desto größer war die Fläche der *AUC* (Abb. 21). Mit steigender Dosierung wurde sowohl *ante* als auch *post partum* eine viel höhere 25(OH)D₃ – Konzentration im Organismus der supplementierten Tiere erreicht als bei den Tieren der Kontrollgruppe (Abb. 21). Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Kühe wurden nur *ante partum* in die Analyse miteinbezogen.

4.2.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 25(OH)D₃

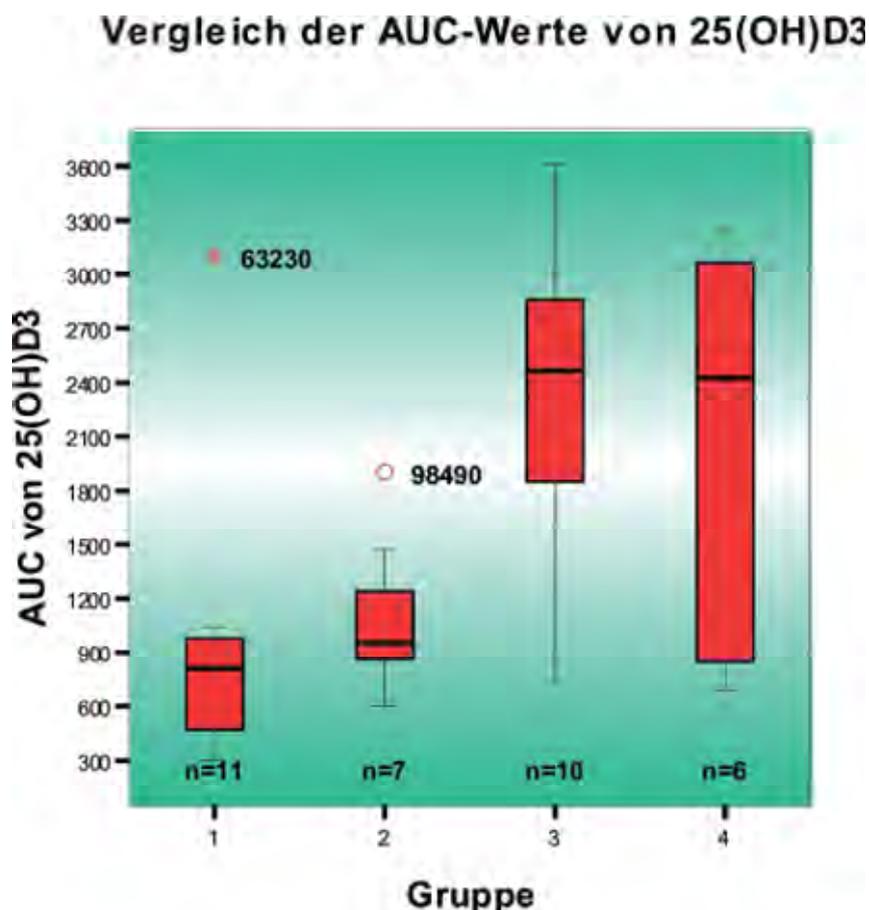


Abb. 22: Vergleich der *AUC*-Werte (Boxplots) von 25(OH)D₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer; * = Extremwerte) vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 21 und Tab. 15)].

Ergebnisse

Grundsätzlich ergaben sich zwischen der Dosis und den Konzentrationen von 25(OH)D₃ im Blut die erwarteten Zusammenhänge. Je höher die Dosierung und je länger die Dosierungsdauer, desto höher war die 25(OH)D₃ – Konzentration im Blut (Abb. 20). Es wurde vor der Abkalbung kein „*steady state*“ erreicht. Ferner zeigte sich bei der Kontrollgruppe *peripartal* ein Abfall der 25(OH)D₃ – Konzentration, während die Gruppen, die supplementiert worden waren, einen Anstieg in der 25(OH)D₃ – Konzentration aufwiesen, wobei sich mit steigender Dosierung ein vermehrter Anstieg ergab (Abb. 20). Entsprechendes ergaben auch die AUC-Werte, die in Abb. 21, Abb. 22 und Tab. 15 graphisch sowie tabellarisch dargestellt wurden. Anhand der Mediane der einzelnen Gruppen ist zu beobachten, dass mit steigender Dosis auch die Größe der AUC zunimmt (Abb. 21 und Abb. 22). Alle berechneten Werte der AUC von 25(OH)D₃ der supplementierten Gruppen liegen deutlich über denen der Kontrollgruppe. Mit Hilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests wurden signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Tieren, die mit 1.0 mg 25(OH)D₃ oder 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden sind, nachgewiesen (Abb. 21 und Abb. 22). Auch durch die statistische Überprüfung mit dem t-Test nach WELCH konnten bei der 1.0 mg- und 2.0 mg-Gruppe an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

Als Ergänzung zu den Abb. 20 - Abb. 22 und den bisher ausgeführten Ergebnissen sind in Tab. 15 und Tab. 16 die statistischen Daten (mit SPSS berechnet) und Unterschiede zu den wichtigsten Zeitpunkten zwischen den supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe nochmals zusammengefasst.

Tab. 15: Vergleich der AUC-Werte von 25(OH)D₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 21 und Abb. 22).

Gruppe	0mg	0.5mg	1mg	2mg
Tierzahl ohne Festl.	11	7	10	6
Mittelwert	907,02	1097,18	2349,50	2120,13
Standardfehler des MW	232,83	168,50	255,62	466,26
Median	807,38	955,25	2459,89	2431,10
Standardabweichung	772,23	445,82	808,33	1142,09
Varianz	596331,90	198756,80	653399,10	1304371,00
Spannweite	2794,98	1298,24	2869,35	2556,22
Min	305,53	608,60	735,15	695,68
Max	3100,51	1906,84	3604,50	3251,90
25%	457,51	776,21	1827,10	811,09
50%	807,38	955,25	2459,89	2431,10
75%	1001,71	1477,89	2872,88	3109,06

Tab. 16: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D₃, ng/ml] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle (Vgl. auch Abb. 20).

Time	0 mg	0.5 mg	Vgl. zur Kontrolle	1 mg	Vgl. zur Kontrolle	2 mg	Vgl. zur Kontrolle
1. Supp	41,50	40,96	=	38,07	=	31,10	↓
22. Supp	38,56	53,77	↑	99,30	↑↑↑	84,30	↑↑
0	43,18	61,43	↑	122,37	↑↑↑	110,42	↑↑↑
1. d p.p.	42,61	76,00	↑↑	115,16	↑↑↑	137,63	↑↑↑
10. d p.p.	38,49	51,91	↑	71,27	↑↑	70,88	↑↑

Legende Tab. 16:

- = kein Unterschied; ↓ geringere Konzentration im Vergleich zur Kontrolle;
 ↑ geringgradige (ggr.) Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle;
 ↑↑ mittelgradige (mgr.) Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle;
 ↑↑↑ hochgradige (hgr.) Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle.

4.3 Dihydroxycholecalciferol – 1,25(OH)₂D₃

In Abb. 23 sind die Mittelwerte der Konzentrationen von 1,25(OH)₂D₃ *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Zum Vergleich ist zusätzlich der Einfluss der Hypocalcämie-behandelten Kühe auf die Mittelwerte von 1,25(OH)₂D₃ dargestellt. Aus den vorliegenden Diagrammen ist zu entnehmen, dass sich die Mittelwerte der 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen der einzelnen Dosierungen und der Kontrollgruppe kaum voneinander unterschieden. Wie schon bei 25(OH)D₃ festzustellen war, waren auch hier die Werte am 1. Supplementationsstag bei allen Dosierungen fast identisch (Abb. 23).

Ante partum verliefen die Kurven annähernd parallel zueinander mit einem durchschnittlichen Mittelwert von 17.84 pg/ml (ibT) bzw. 15.99 pg/ml (ebT). Zum Geburtszeitpunkt hin stiegen die 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen stark an, wobei die Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 73.67 pg/ml (ibT) bzw. 72.55 pg/ml (ebT) bei der Abkalbung den höchsten Wert aufwies.

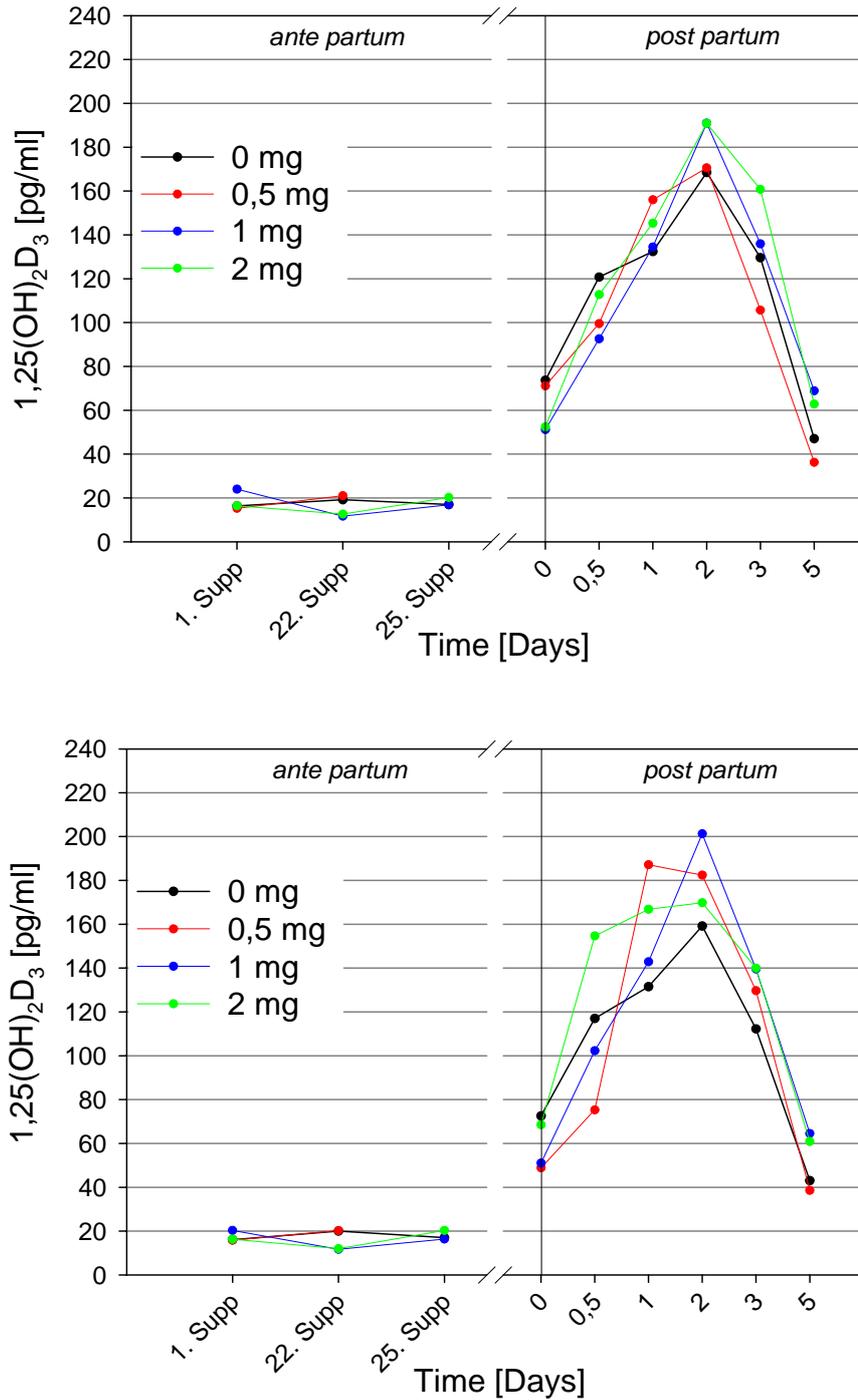


Abb. 23: Mittelwerte der Dihydroxycholecalciferolkonzentrationen [1,25(OH)₂D₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.

Vergleich der in Abb. 23 dargestellten Diagramme:

Abb. 23 oben: Die Konzentrationen von 1,25(OH)₂D₃ der Kontrollgruppe und der mit 0.5 mg supplementierten Gruppe unterschieden sich bei der Abkalbung nur geringfügig. Die Tiere, die mit 1.0 mg- und 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden waren, lagen mit einem

Mittelwert von 51.18 bzw. 52.42 pg/ml gleich auf, jedoch deutlich unter dem Konzentrationsniveau der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Geburt. Von der Abkalbung an nahmen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen stark zu und erreichten ihr Maximum am 2. Tag *post partum*. Die Abweichung von 22.50 pg/ml zwischen höchster (1.0 mg-Gruppe) und niedrigster (Kontrollgruppe) Konzentration der untersuchten Gruppen war jedoch sehr gering. Ab dem 2. Tag *post partum* fielen die Konzentrationen stark ab. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte blieben aber deutlich über dem Konzentrationsniveau der *ante partalen* Ausgangswerte.

Ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen war optisch nur andeutungsweise am 2. Tag *post partum* zu erkennen. Dabei waren die Gruppen, die mit 1.0 mg- und 2.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert wurden, mit einem Mittelwert von 191.00 bzw. 190.92 pg/ml ein wenig höher, als die Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 168.50 pg/ml.

Abb. 23 unten: Die Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ der Kontrollgruppe und der mit 2.0 mg supplementierten Gruppe unterschieden sich bei der Abkalbung nur geringfügig. Die Tiere, die mit 0.5 mg- und 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden waren, lagen mit einem Mittelwert von 48.86 bzw. 51.00 pg/ml gleich auf, aber deutlich unter dem Konzentrationsniveau der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Geburt. Von der Abkalbung an nahmen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen stark zu und erreichten ihr Maximum mit Ausnahme der 0.5 mg-Gruppe am 2. Tag *post partum*. Die Abweichung von 42.12 pg/ml zwischen höchster (1.0 mg-Gruppe) und niedrigster (Kontrollgruppe) Konzentration der untersuchten Gruppen war jedoch sehr gering. Ab dem 2. Tag *post partum* fielen die Konzentrationen stark ab. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte blieben aber deutlich über dem Konzentrationsniveau der *ante partalen* Ausgangswerte.

Ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen war am 2. Tag *post partum* zu erkennen. Dabei waren die supplementierten Gruppen, mit einem Mittelwert von 182.43 pg/ml (0.5 mg), 201.30 pg/ml (1.0 mg) und 169.83 pg/ml (2.0 mg) höher als die Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 159.18 pg/ml. Dieser Unterschied wird im unteren Diagramm (Abb. 24), in dem nur nicht-behandelte Tiere dargestellt sind, deutlicher.

4.3.1 Statistische Auswertung der Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Bei der statistischen Auswertung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen wurden nur Daten ab dem Geburtszeitpunkt in der Auswertung berücksichtigt. Behandelte Kühe wurden nicht in die Analyse miteinbezogen. Hierfür wurden die AUC-Werte in den Diagrammen der Abb. 24 mithilfe der Mittelwerte der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen der einzelnen Gruppen in SigmaPlot graphisch dargestellt und berechnet. Bei den mit 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementierten Tieren wurden statistisch erhebliche Abweichungen zur Kontrollgruppe

Ergebnisse

ermittelt (Abb. 25 und Tab. 17). Innerhalb der einzelnen Gruppen gab es jedoch im Kurvenverlauf der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte kaum Unterschiede (Abb. 23).

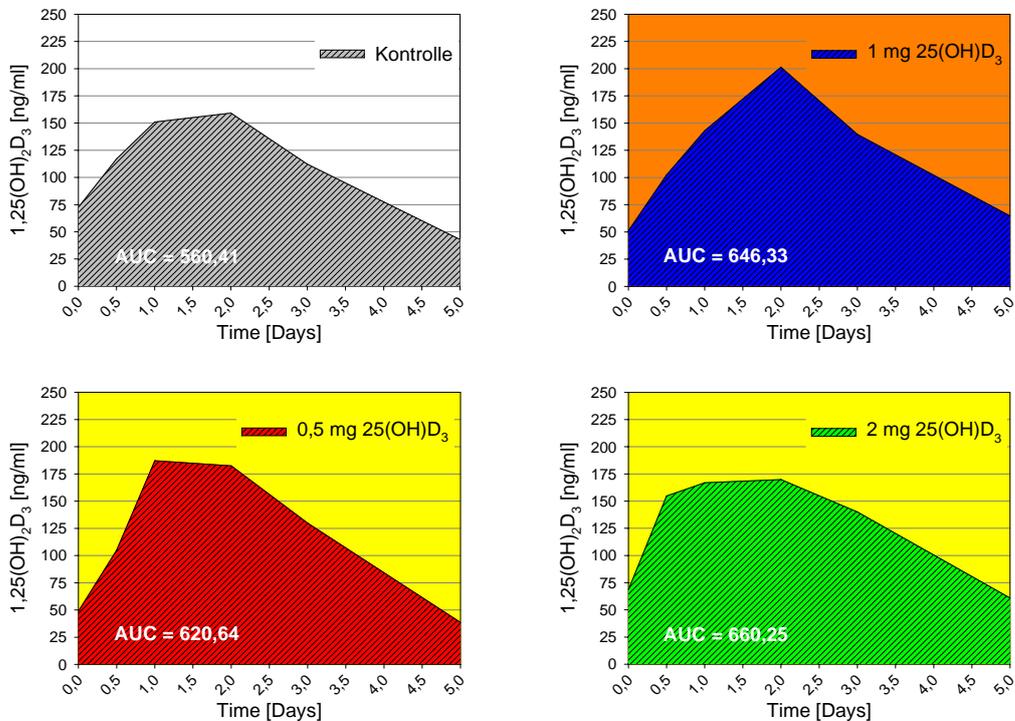


Abb. 24: Darstellung der AUC -Werte (schraffierter Bereich) von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die graphischen Erkenntnisse der AUC -Werte konnten anhand des MANN-WITHNEY-U-Tests und t-Tests nach WELCH bestätigt werden (Abb. 24). Auch mittels statistischer Überprüfung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Mittelwerte (Abb. 23) mit dem t-Test nach WELCH konnten bei der 1.0 mg- und 2.0 mg-Gruppe an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Es gab demnach keine Unterschiede in Bezug auf Dosis und Wirkung zwischen den supplementierten Tieren und den Kontrolltieren (Abb. 25). Trotz geringer Unterschiede konnte aber auch hier mit steigender $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Dosis eine Zunahme der AUC -Größe beobachtet werden (Abb. 24 und Tab. 17).

4.3.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 1,25(OH)₂D₃

In Abb. 25 und Tab. 17 sind alle Ergebnisse der statistischen Auswertung aufgeführt. Wie schon aufgrund der Darstellung der Ergebnisse in der Abb. 23 zu vermuten war, gab es auch anhand des MANN-WITHNEY-U-Tests keine signifikanten Unterschiede zwischen den 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen der einzelnen Gruppen. Auch die statistische Überprüfung der 1,25(OH)₂D₃ – Mittelwerte und der AUC-Werte mit dem t-Test nach WELCH bestätigte diese Aussage. Die 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen ergaben *ante partum* einen Mittelwert von 17.84 pg/ml (ibT) bzw. 15.99 pg/ml (ebT). Bei der Abkalbung stiegen die 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen erheblich an und erreichten ihr Maximum, mit durchschnittlich 179.80 pg/ml (ibT) bzw. 180.24 pg/ml (ebT), 48 h *p.p.*. Danach fielen sie wieder ab, wobei die Konzentrationen der *antepartalen* Ausgangswerte deutlich übertroffen wurden.

Tab. 17: Vergleich der AUC-Werte von 1,25(OH)₂D₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 24 und Abb. 25).

Gruppe	0mg	0.5mg	1mg	2mg
Tierzahl ohne Festl.	11	7	10	6
Mittelwert	560,41	620,64	638,86	660,25
Standardfehler des MW	55,08	79,37	83,54	88,37
Median	551,25	582,25	699,50	589,13
Standardabweichung	182,68	210,00	264,17	216,46
Varianz	33371,98	44098,60	69788,37	46855,45
Spannweite	666,75	648,50	725,13	583,25
Min	308,50	401,00	225,87	445,50
Max	975,25	1049,50	951,00	1028,75
25%	499,50	474,75	378,00	497,25
50%	551,25	582,25	699,50	589,13
75%	595,25	690,25	885,00	853,06

Bei der Betrachtung der AUC-Werte (Abb. 25 und Tab. 17) war anhand der Mediane der einzelnen Gruppen zu beobachten, dass mit steigender Dosis auch die AUC-Größe zunahm. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der 25(OH)D₃-AUC-Werte, lagen die Mittelwerte der AUC-Werte von 1,25(OH)₂D₃ bei den supplementierten Gruppen nicht so deutlich über denen der Kontrollgruppe.

Analog zu 25(OH)D₃ ergaben sich für die *postpartalen* 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen höhere Konzentrationen als *antepartal*. Mit Hilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests und des t-Tests nach WELCH wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen nachgewiesen.

Vergleich der AUC-Werte von 1,25(OH)₂D₃

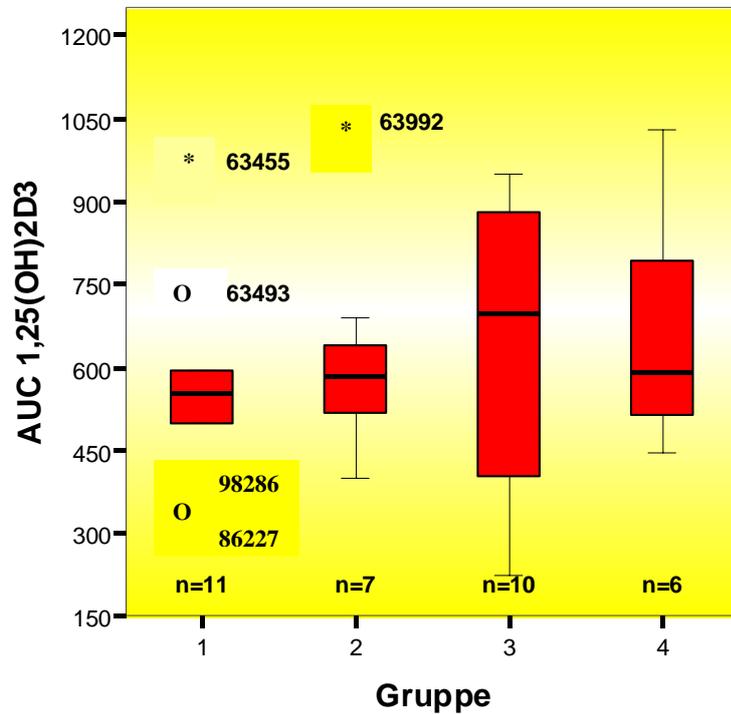


Abb. 25: Vergleich der AUC-Werte (Boxplots) von 1,25(OH)₂D₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer; * = Extremwerte) von der Abkalbung bis zum 5. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 24 und Tab. 17)].

4.4 Elektrolyte – Experiment 2

Die folgenden Diagramme und statistischen Auswertungen wurden analog zu Experiment 1 erstellt.

4.4.1 Gesamtcalcium (Ca_{tot})

In Abb. 26 sind die Mittelwerte von Gesamtcalcium entsprechend den Dosierungen *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. *Ante partum* sind die jeweiligen Supplementationszeitpunkte beginnend mit dem 1. Supplementationsstag (1. Supp) bis zum 7. Supplementationsstag (7. Supp) abgebildet. Der grau unterlegte Bereich gibt den Referenzbereich der Ca-Konzentration im Blut wieder.

Wie der Abb. 26 zu entnehmen ist, unterscheiden sich die Ca-Konzentrationen der einzelnen Dosierungen *ante partum* kaum voneinander. Sowohl die Ca-Konzentrationen der Kontrolltiere als auch der supplementierten Kühe verlaufen nahezu vollständig innerhalb des

Referenzbereiches bei 2.41 mmol/l (Abb. 26). Zum Geburtszeitpunkt fallen die Werte aller Dosierungen stark ab.

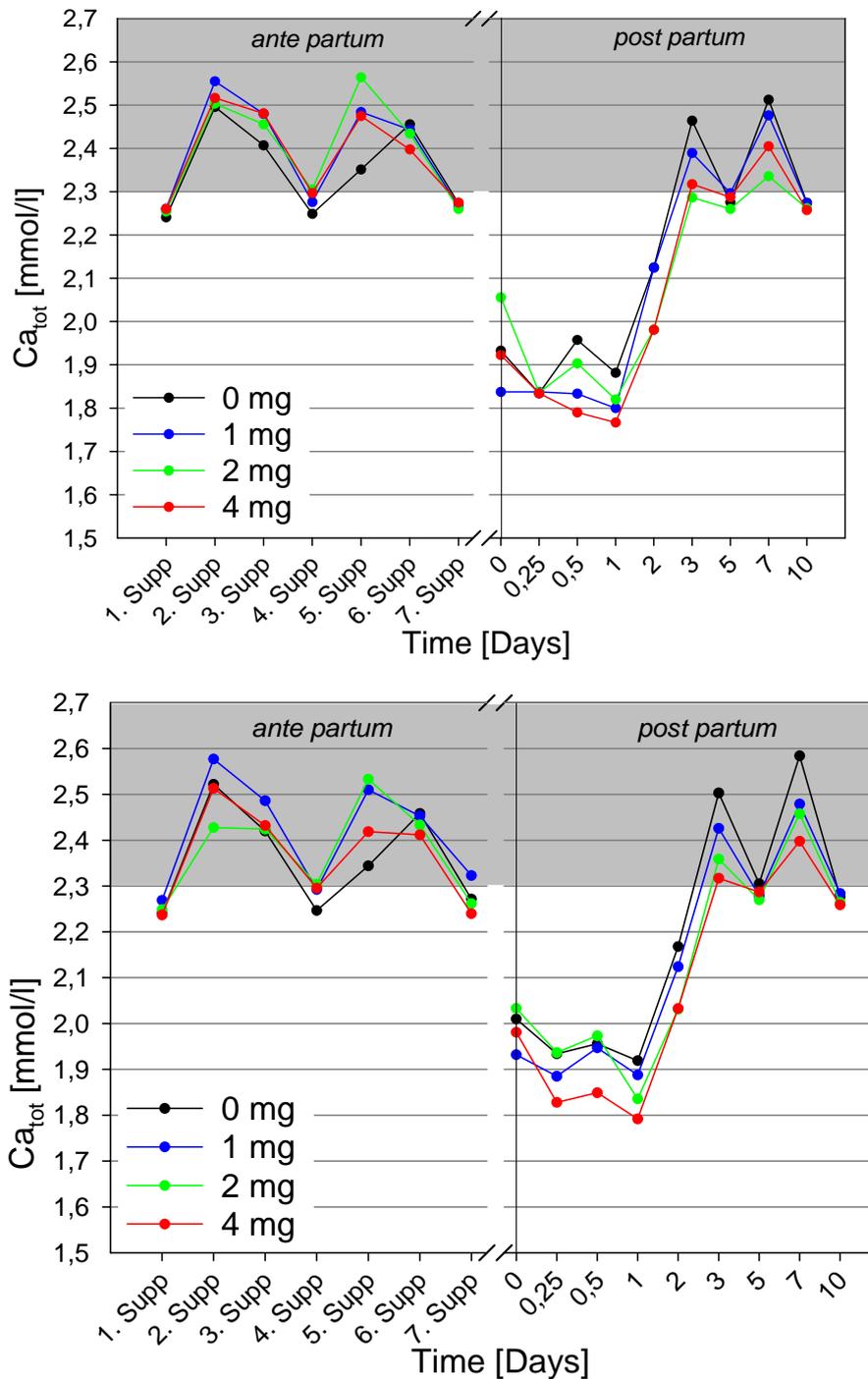


Abb. 26: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentrationen (Ca_{tot}) bei allen Tieren (oben) und ohne die Tiere, die eine Hypocalcämie-Behandlung erhalten hatten (unten) von vier Gruppen mit unterschiedlichen 25(OH) D_3 – Dosierungen. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Vergleich der in Abb. 26 dargestellten Diagramme:

Abb. 26 oben: In diesem Diagramm sind die Ca_{tot} -Mittelwerte der Dosierungsgruppen dargestellt, einschließlich der aufgrund von Hypocalcämie *p.p.* mit Calcium behandelten Tiere. Die Verlaufskurve der Kontrolltiere und der 4.0 mg-Gruppe unterschied sich bei der Abkalbung mit 1.93 bzw. 1.92 mmol/l nicht. Die Tiere, die mit 1.0 mg 25(OH) D_3 supplementiert worden waren, hatten im Mittel mit 1.84 mmol/l die niedrigste Ca-Konzentration, während die Gruppe, die mit 2.0 mg 25(OH) D_3 supplementiert worden war, mit 2.06 mmol/l die höchste Ca-Konzentration aufwies. Die Abweichung von 0.22 mmol/l zwischen höchster und niedrigster 25(OH) D_3 – Dosierung war somit nicht signifikant.

Post partum ergaben sich bis zum 3. Tag Ca-Konzentrationen unterhalb des Referenzbereiches. 6 h *p.p.* lagen alle vier Gruppen auf dem gleichen Konzentrationsniveau bei 1.83 - 1.84 mmol/l. Danach trennten sich die Kurven und verhielten sich weiterhin annähernd identisch zueinander. Die niedrigste Konzentration wurde 24 h *p.p.* beobachtet. Danach war ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentrationen bis auf die Ebene der Werte, wie sie sich *ante partum* dargestellt hatten, zu verzeichnen. Die Gruppe, die mit 4.0 mg 25(OH) D_3 supplementiert worden war, fiel im Mittel mit 1.77 mmol/l am weitesten ab. Danach erfolgte ein kontinuierlicher Anstieg bis zur Untergrenze des Referenzbereiches. Die Kontrollgruppe verzeichnete die höchste Gesamtcalciumkonzentration 24 h *p.p.* (1.88 mmol/l) und hatte auch anschließend die größten Konzentrationsanstiege zu verzeichnen.

Abb. 26 unten: In diesem Diagramm sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen von Ca_{tot} ohne der aufgrund von Hypocalcämie-behandelten Tiere dargestellt. Dabei war ersichtlich, dass die 1.0 mg-Gruppe mit 1.93 mmol/l zum Zeitpunkt der Geburt die niedrigste Ca-Konzentration im Gruppenvergleich aufwies. Die Kontrollgruppe war fast im gesamten Kurvenverlauf *post partum* deutlich höher als die anderen Gruppen.

Allen Gruppen gemeinsam war der geringste Wert 24 h *p.p.* und die höchste Konzentration 7 Tage *post partum*. In Abb. 26 (oben) ergaben sich zwischen den höchsten (Kontrollgruppe, 1.88 mmol/l) und den tiefsten (4.0 mg-Gruppe, 1.77 mmol/l) Werten nach 24 h *p.p.* nur minimale und nicht signifikante Unterschiede. In Abb. 26 (unten) wiesen ebenfalls alle supplementierten Gruppen einen geringeren Ca_{tot} -Wert auf als die Kontrollgruppe. Im Vergleich zu Experiment 1 ergab sich im gesamten Untersuchungszeitraum ein höheres Ca_{tot} -Niveau (siehe Abb. 9 und Abb. 26).

4.4.2 Gesamtmagnesium (Mg_{tot})

In Abb. 27 sind die Mittelwerte der einzelnen Dosierungen von Gesamtmagnesium *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Im Gegensatz zu den Gesamtcalciumkonzentrationen, verliefen die Gesamtmagnesiumwerte vollständig innerhalb des Referenzbereiches. Der Kurvenverlauf von Mg_{tot} verlief reziprok zu Ca_{tot} .

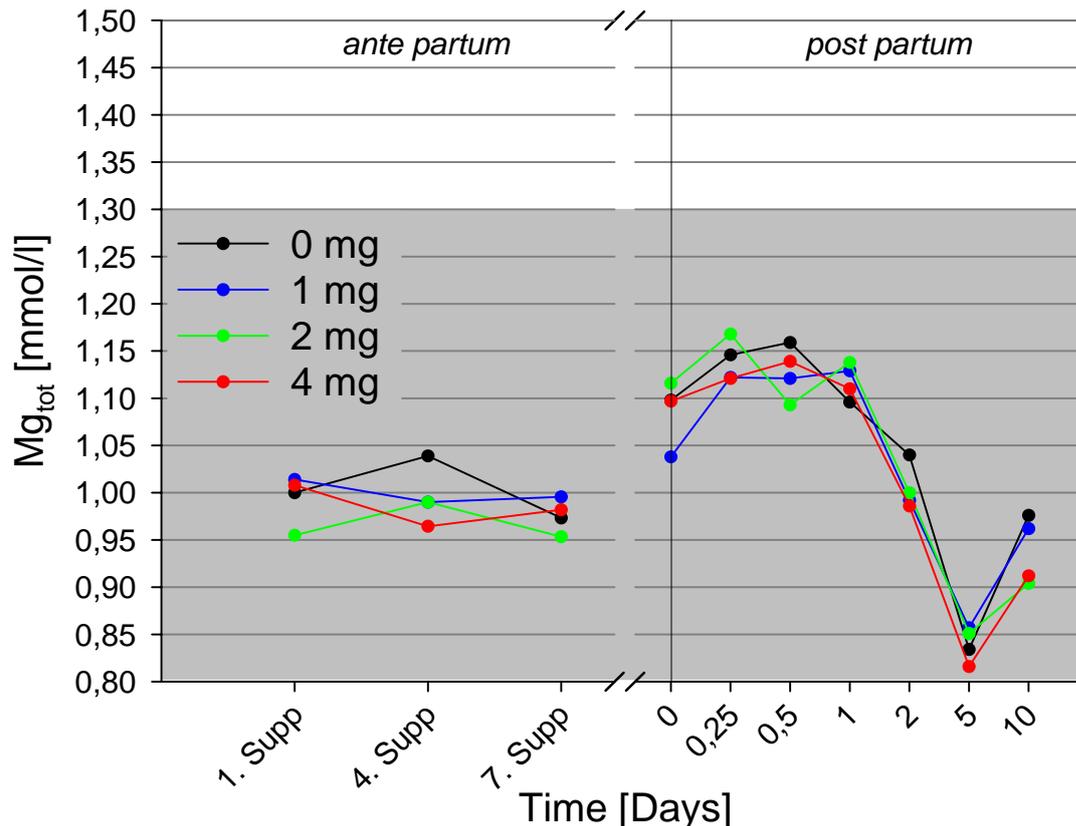


Abb. 27: Mittelwerte der Gesamtmagnesiumkonzentrationen (Mg_{tot}) von vier Gruppen à 12 Tiere mit unterschiedlichen $25(OH)D_3$ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Mg_{tot} wurde grau unterlegt.

Auch hier waren *ante partum* keine signifikanten, dosisabhängigen Unterschiede zu erkennen. Es war *ante partum* ein nahezu paralleler Kurvenverlauf bei 1.00 mmol/l festzustellen (Abb. 27). Bei der Abkalbung stiegen die Werte aller Dosierungen stark an und wiesen Mg-Konzentrationen zwischen 1.04 (1.0 mg-Gruppe) und 1.12 mmol/l (2.0 mg-Gruppe) auf. Maximalwerte wurden 12 h bzw. 24 h *p.p.* erreicht. Fünf Tage *post partum* fiel die Gesamtmagnesiumkonzentration bei allen Gruppen auf den tiefsten Wert ab. Vergleichend zu Experiment 1 wiesen die Tiere im gesamten Untersuchungszeitraum ein niedrigeres Mg-Niveau auf, was aufgrund der negativen Korrelation zu den höheren Ca-Konzentrationen physiologisch ist (Abb. 10 und Abb. 27).

4.4.3 Phosphat (P)

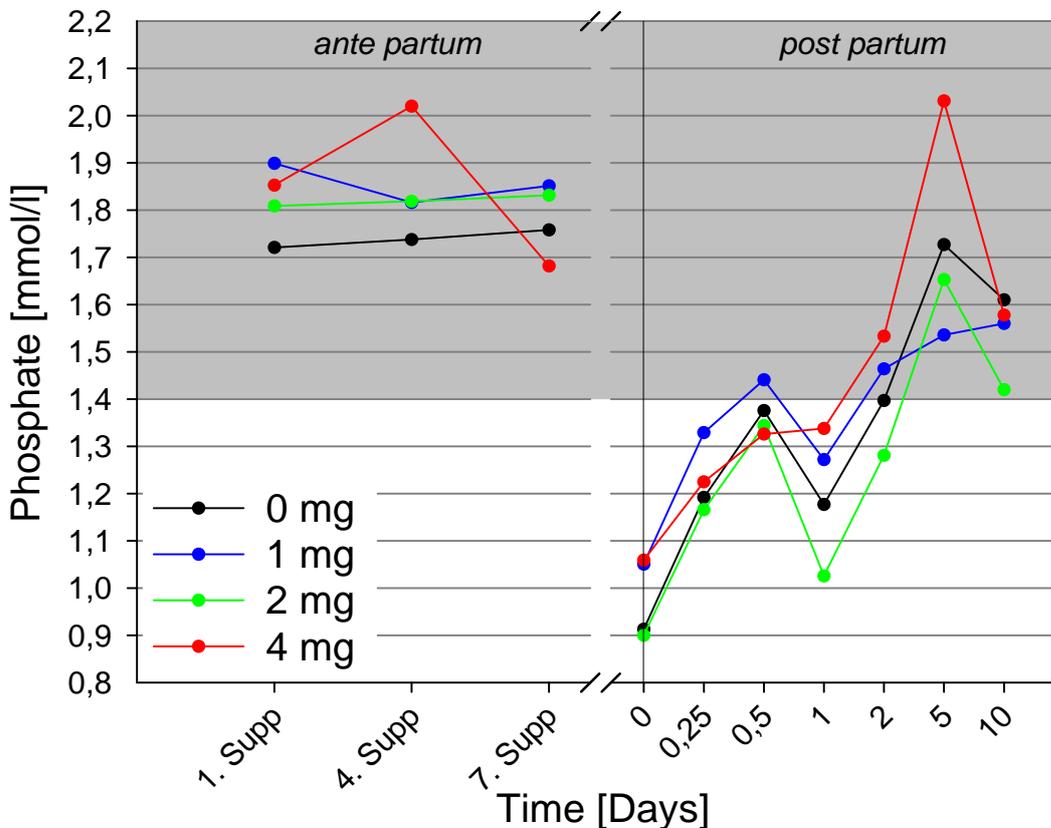


Abb. 28: Mittelwerte der Phosphatkonzentrationen (P) von vier Gruppen à 12 Tiere mit unterschiedlichen Dosierungen. Der Referenzbereich von P wurde grau unterlegt.

In Abb. 28 sind die Mittelwerte der Phosphat – Konzentration *ante* und *post partum* für jede Dosierungsgruppe in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Wie in Abb. 28 ersichtlich ist, gab es bei den Phosphatmittelwerten aller Gruppen mit Ausnahme der 4.0 mg-Gruppe keine signifikanten Unterschiede. Die Konzentrationen schwankten *ante partum* ohne Ausnahme innerhalb des Referenzbereiches bei ungefähr 1.85 mmol/l. Der Kurvenverlauf der 4.0 mg-Gruppe war sowohl *ante* als auch *post partum* im Vergleich zu den anderen Gruppen ein wenig abweichend. *Ante partum* war von Beginn an bis zum 4. Tag der Supplementation ein viel stärkerer Anstieg bis auf 2.02 mmol/l zu beobachten. Dennoch fiel der Wert anschließend bis zum 7. Tag der Supplementation auf den niedrigsten Phosphatwert aller Gruppen ab (1.68 mmol/l).

Der starke Abfall analog mit den Ca-Konzentrationen bei der Abkalbung ist bekannt und üblich. Zum Zeitpunkt der Abkalbung war bei der 4.0 mg-Gruppe die höchste Phosphat – Konzentration mit 1.06 mmol/l zu beobachten. Die Phosphat – Konzentrationen der supplementierten Gruppen lagen hier mit Werten von 1.05 - 1.06 mmol/l mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe (0.90 mmol/l) alle über dem Niveau der Kontrollgruppe (0.91 mmol/l). Bis auf

die Gruppe, die mit 4.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, fielen alle Phosphat – Konzentrationen 24 h *p.p.* nochmals ab, bevor sie am 5. Tag *post partum* mit Ausnahme der 1.0 mg-Gruppe alle ihr Maximum mit Werten von 1.65 - 2.03 mmol/l erreichten. Insgesamt wiesen alle supplementierten Gruppen mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe gegenüber der Kontrolle höhere Konzentrationen auf, die jedoch nicht signifikant waren.

4.4.4 Variabilität von Ca_{tot}

Im folgenden Abschnitt werden die Ca_{tot}-Mittelwerte und deren Standardabweichung (analog zu Experiment 1) der unterschiedlich supplementierten Gruppen separat dargestellt. Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Kühe wurden dabei ausgeschlossen.

4.4.4.1 Kontrollgruppe

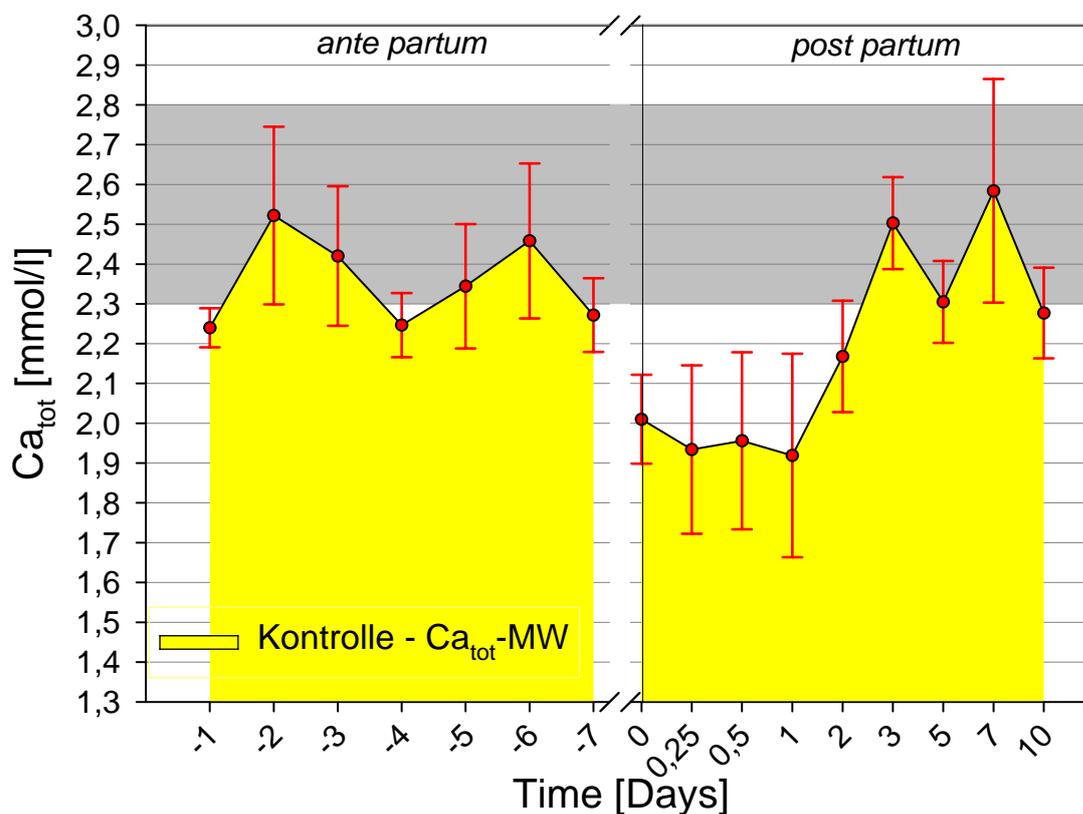


Abb. 29: Mittelwerte (MW) und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der Kontrollgruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Bei dieser Gruppe konnte vor allem 6 - 24 h nach der Abkalbung eine große Streuung zwischen den einzelnen Ca_{tot}-Werten beobachtet werden (Abb. 29). Während sich *ante partum* nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.14 ergab und die geringste

Ergebnisse

Streuung am 1. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.20. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.15. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.07. Zwei Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

4.4.4.2 Supplementation mit 1.0 mg 25(OH)D₃

Im Vergleich zur Kontrollgruppe, gab es bei dieser Gruppe ab dem Zeitpunkt der Geburt bis 48 h *p.p.* kaum erhöhte Streuungen zwischen den einzelnen Ca_{tot}-Werten (Abb. 30). Während sich *ante partum* eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.16 ergab und die geringste Streuung am 6. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.18. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.13.

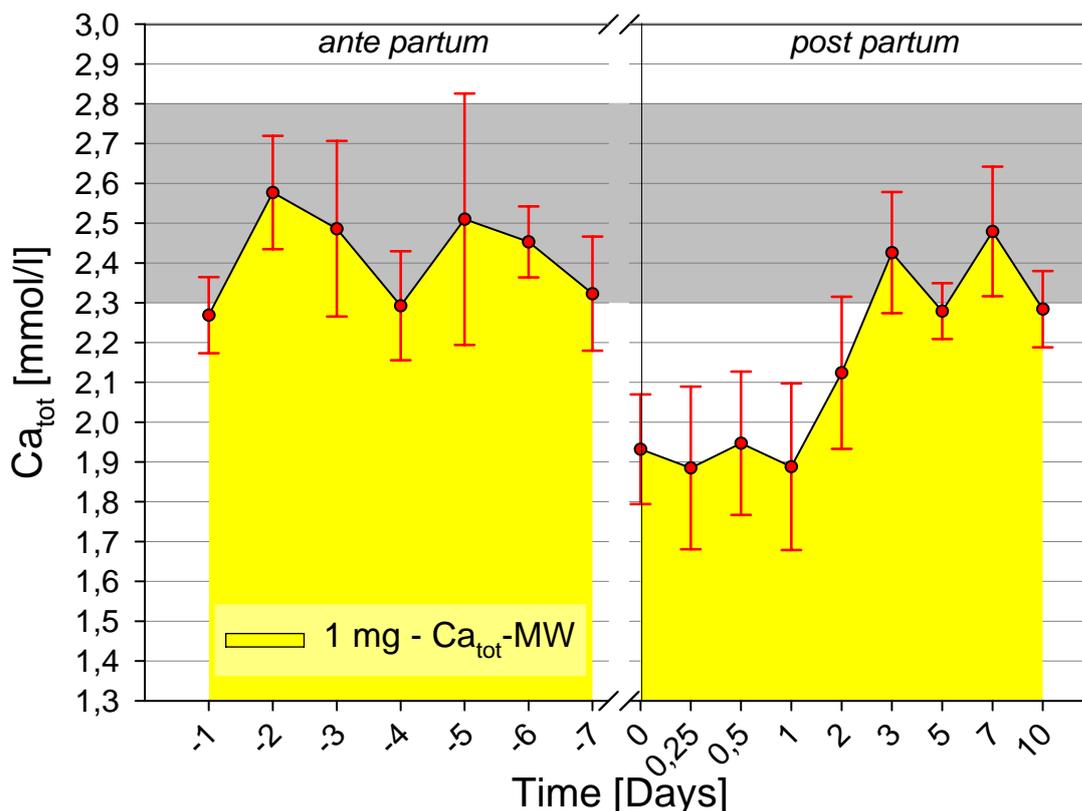


Abb. 30: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 1.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.06. Auffallend hoch war die Streuung innerhalb der Gruppe mit 0.32 am 5. Tag der Supplementation. Zwei

Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

4.4.4.3 Supplementation mit 2.0 mg 25(OH)D₃

Während sich *ante partum* (Abb. 31) nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.16 ergab und die geringste Streuung am 4. und 7. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.19. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.17. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.09. Analog zur 1.0 mg-Gruppe war die Streuung innerhalb der 2.0 mg-Gruppe mit 0.32 am 5. Tag der Supplementation auffallend hoch. Zwei Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

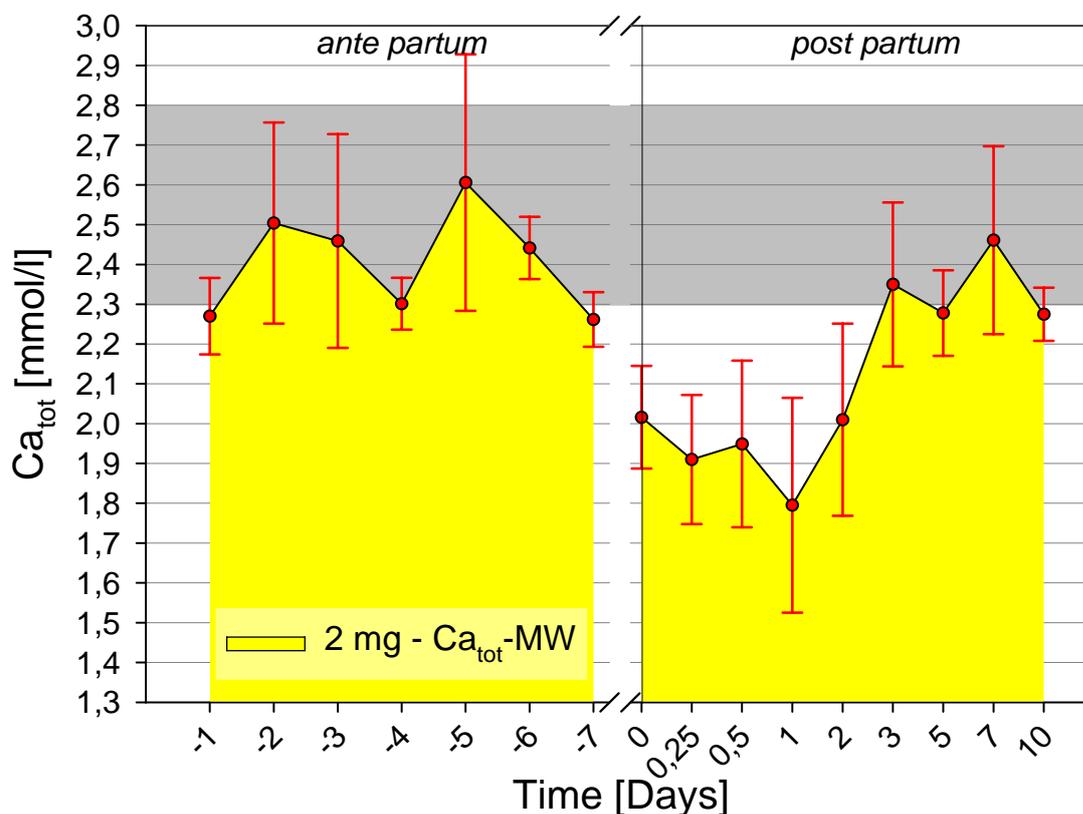


Abb. 31: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 2.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

4.4.4.4 Supplementation mit 4.0 mg 25(OH)D₃

Wie bei den anderen Gruppen schon festgestellt wurde, ist nach der Abkalbung häufig eine große Streuung der Ca_{tot} -Werte zu beobachten (Abb. 32). Während sich *ante partum* nur eine durchschnittliche Standardabweichung von 0.16 ergab und die geringste Streuung am 4. Tag der Supplementation beobachtet wurde, erhöhte sich die Streuung von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* auf 0.24. Im Zeitfenster zwischen 48 h *p.p.* bis zum 10. Tag *post partum* ergab sich eine Standardabweichung von 0.15. Die durchschnittliche Standardabweichung dieser Gruppe betrug insgesamt 0.06. Auffallend hoch war die Streuung innerhalb der Gruppe mit 0.31 am 1. Tag *post partum*. Zwei Tiere mussten aufgrund einer Hypocalcämie behandelt werden (Daten wurden ausgeschlossen; Vgl. Tab. 12).

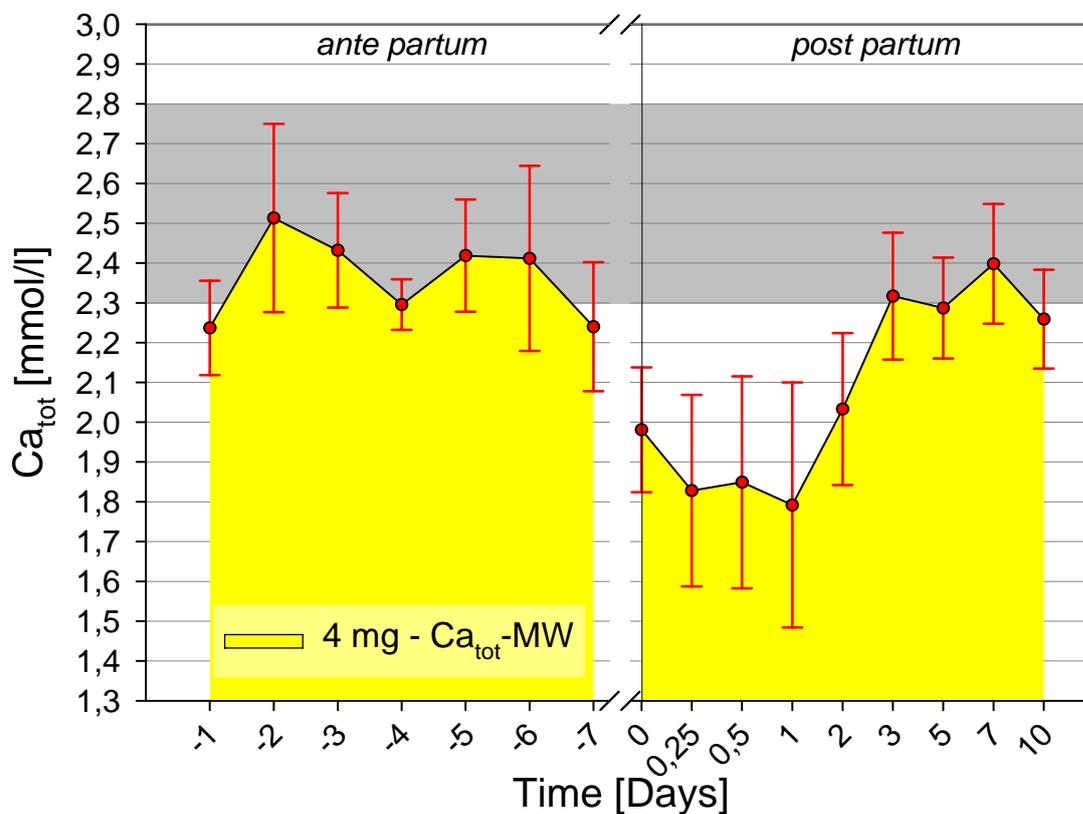


Abb. 32: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentration (Ca_{tot}) der 4.0 mg-Gruppe und deren Standardabweichung. Der Referenzbereich von Ca_{tot} wurde grau unterlegt.

4.4.5 Die Standardabweichung von Ca_{tot} im Gruppenvergleich

Wie schon in Experiment 1 festgestellt wurde, sind bei einem Vergleich der Gruppen im Kurvenverlauf kaum Unterschiede zu erkennen (Abb. 9).

Im Folgenden sind die bisherigen Ergebnisse zur Standardabweichung der Ca_{tot} -Mittelwerte aus Experiment 2 der einzelnen Gruppen zum direkten Vergleich in einer Tabelle (Tab. 18) zusammengefasst.

Tab. 18: Mittelwerte der einzelnen Standardabweichungen von Ca_{tot} [mmol/l].

Gruppe	Mittel <i>a.p.</i>	Mittel 0 h - 24 h <i>p.p.</i>	Mittel 48 h - 10 d <i>p.p.</i>	Min	Max	Gesamt
0 mg	0,14	0,20	0,15	0,05	0,28	0,07
1 mg	0,16	0,18	0,13	0,07	0,32	0,06
2 mg	0,16	0,19	0,17	0,07	0,32	0,09
4 mg	0,16	0,24	0,15	0,06	0,31	0,06

Ante partum ergab sich bei allen Gruppen eine geringere Standardabweichung mit 0.14 - 0.16 als *post partum*. Betrachtet man den Zeitraum von der Abkalbung bis 24 h *p.p.* getrennt von den darauf folgenden Zeitpunkten, so war in diesem Zeitfenster eine deutlich höhere Standardabweichung mit 0.18 - 0.24 festzustellen. Ab dem 2. Tag *post partum* reduzierte sich die Standardabweichung auf 0.13 - 0.17 und entsprach damit ungefähr den Werten *ante partum*. Die geringsten Standardabweichungen mit 0.05 - 0.07 waren bei jeder Gruppe an unterschiedlichen Zeitpunkten festzustellen, jedoch mit Ausnahme der 1.0 mg-Gruppe immer *ante partum*. Im gesamten Zeitraum ergab sich eine Standardabweichung von 0.06 - 0.09.

Innerhalb der einzelnen Gruppen gab es auch im Experiment 2 bei Betrachtung der Einzeltiere im Kurvenverlauf der Ca_{tot} -Werte erhebliche Unterschiede. Um diese Unterschiede besser zu veranschaulichen, sind in den Diagrammen der Abb. 33 - Abb. 34 die *Areas under the curve* von ausgewählten Tieren (bester und schlechtester Kuh aus jeder Gruppe) in einer Dosis-Wirkungs-Kurve graphisch dargestellt. Bei Betrachtung ist darauf zu achten, dass auf der x-Achse der einzelnen Abbildungen eine unterschiedliche Anzahl von Supplementationstagen aufgetragen ist und dass das Diagramm der 4.0 mg-Gruppe eine andere y-Achseneinteilung aufweist als die üblichen Gruppen.

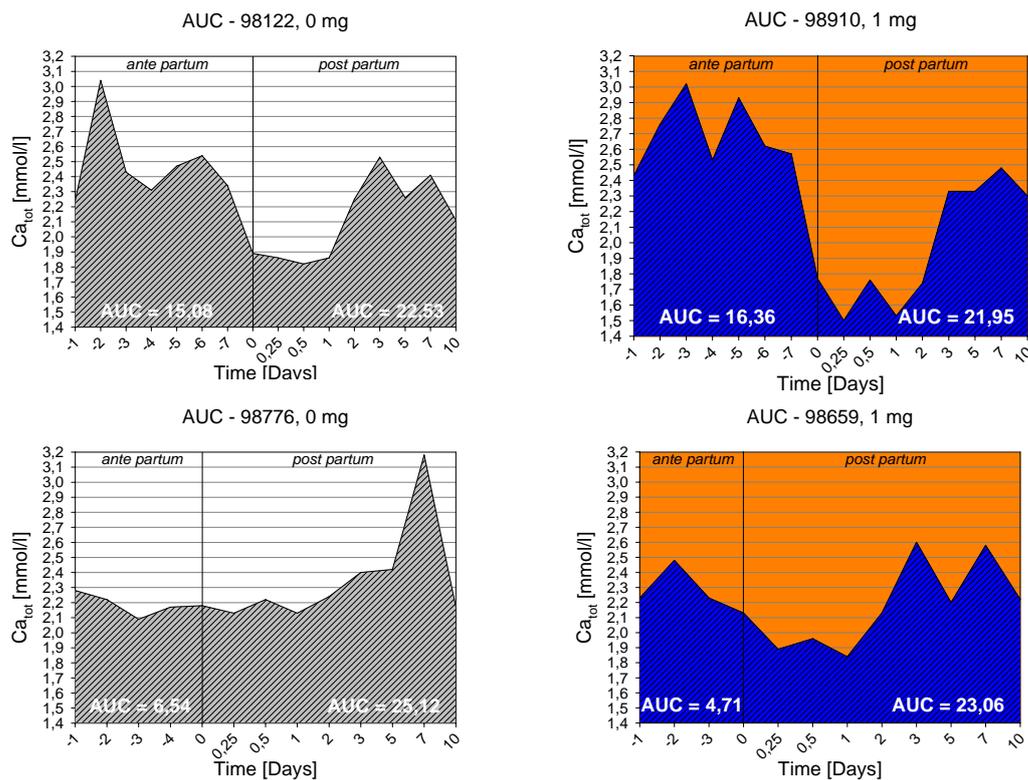


Abb. 33: Darstellung der Areas under the curve (schraffierter Bereich) von Ca_{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der Kontrollgruppe (links) und der 1.0 mg-Gruppe (rechts).

Trotz der erheblichen individuellen Differenzen im Kurvenverlauf wurden im Gruppenvergleich anhand des MANN-WITHNEY-U-Tests nur bei der 4.0 mg-Gruppe signifikante Unterschiede in Bezug auf Dosis und Wirkung zwischen den supplementierten Tieren und den Kontrolltieren festgestellt (Abb. 36 und Tab. 19). Auch mit dem t-Test nach WELCH ergaben sich nur drei signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Versuchsgruppen. Zum einen am 2. Tag *post partum* zwischen Kontrollgruppe und 2.0- bzw. 4.0 mg-Gruppe und zum anderen am 3. Tag *post partum* zwischen Kontrollgruppe und 4.0 mg-Gruppe. Die statistische Auswertung anhand des WILCOXON-Tests konnte ebenfalls nur die analogen signifikanten Unterschiede am 3. Tag *post partum* bestätigen. Zusätzlich wurde mit diesem Test noch ein Unterschied am 7. Tag *post partum* bei der 4.0 mg-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen.

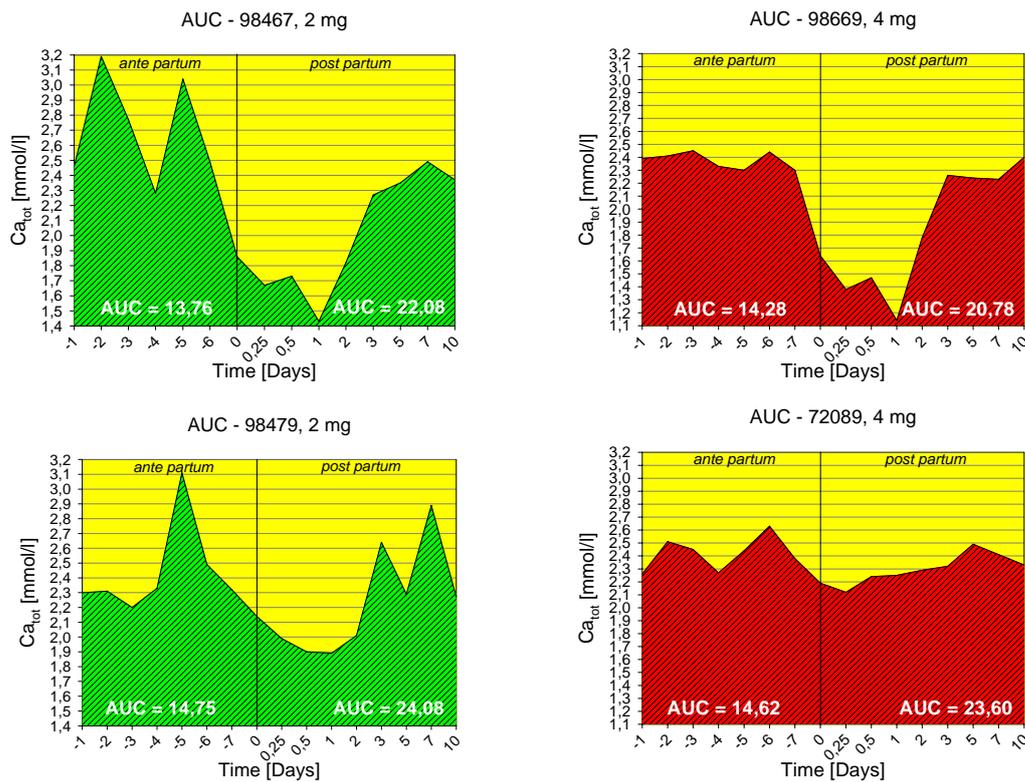


Abb. 34: Darstellung der Areas under the curve (schraffierter Bereich) von Ca_{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der 2.0 mg-Gruppe (links) und der 4.0 mg-Gruppe (rechts).

4.4.6 AUC der Ca_{tot} -Mittelwerte im Gruppenvergleich

Um insgesamt alle Gruppen miteinander zu vergleichen, sind nachfolgend zu den AUCs der Einzeltiere (Abb. 33 und Abb. 34) nun abschließend in Abb. 35 und Abb. 36 der Vergleich der gesamten Gruppe anhand der Areas under the curve der Ca_{tot} -Mittelwerte dargestellt. Die statistische Auswertung mithilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests und des t-Tests nach WELCH ergab keine signifikanten Unterschiede. Wie aus Tab. 19 zu entnehmen ist, liegen auch alle AUC-Mittelwerte in etwa auf gleicher Höhe. Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Tiere wurden aus dieser Grafik ausgeschlossen.

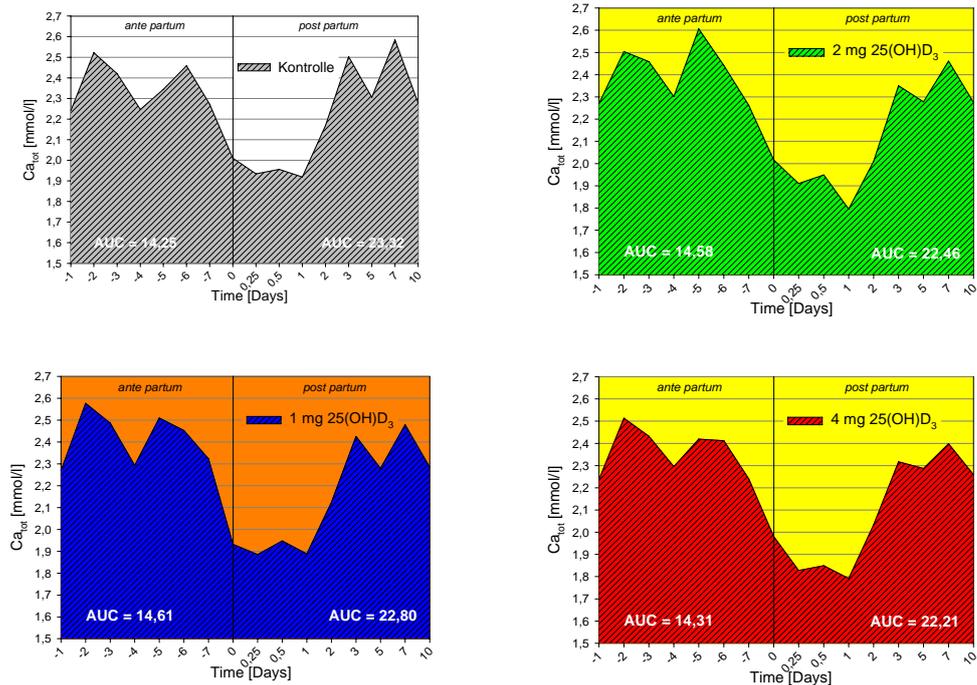


Abb. 35: Darstellung der Areas under the curve der Ca_{tot} -Mittelwerte der einzelnen Gruppen.

4.4.7 Zusammenfassung der Ergebnisse von Ca_{tot}

Wie schon in Abb. 26 festgestellt wurde, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ca-Konzentrationen der einzelnen Gruppen. Sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den supplementierten Gruppen befanden sich alle Ca-Konzentrationen *ante partum* annähernd innerhalb des Referenzbereichs. *Post partum* wurde dieses Konzentrationsniveau erst zwischen dem 2.- und 3. Tag erreicht. Zum Zeitpunkt der Geburt und bis zum 2. Tag *post partum* fielen die Ca-Werte aller Gruppen deutlich unter das Niveau des Referenzbereiches ab. Die Ca_{tot} -Werte ergaben *ante partum* einen Mittelwert von 2.40 mmol/l. Bei der Abkalbung fiel der Gesamtcalciumgehalt stark ab und erreichte sein Minimum 24 h *p.p.* mit einem durchschnittlichen Wert von 1.79 - 1.92 mmol/l (ebT) bzw. 1.77 - 1.88 mmol/l (ibT). Danach war der Organismus der Kühe wieder in der Lage, ausreichend Calcium bereitzustellen. Sieben Tage *post partum* wurden Maximalwerte von 2.40 - 2.58 mmol/l (ebT) bzw. 2.34 - 2.51 mmol/l (ibT) erreicht.

Zusätzlich zu den Dosis-Wirkungs-Kurven der einzelnen Gruppen wurde eine statistische Auswertung der Ergebnisse durchgeführt. Zur Datenauswertung wurden zunächst die Standardabweichungen für jede Gruppe berechnet und graphisch sowie tabellarisch

dargestellt. Bei den Standardabweichungen war *peripartal* und am 5. Tag der Supplementation eine größere Streuung zu beobachten, als bei den übrigen Zeitpunkten (Tab. 18). Die geringsten Standardabweichungen mit 0.05 - 0.07 waren je nach Gruppe an unterschiedlichen Zeitpunkten festzustellen, jedoch mit Ausnahme der 1.0 mg-Gruppe immer *ante partum*. Die größten Abweichungen wurden mit 0.28 - 0.32 bei allen Gruppen ebenfalls an unterschiedlichen Zeitpunkten beobachtet. Im gesamten Zeitraum ergab sich eine Standardabweichung von 0.06 - 0.09.

Zusätzlich wurde für jedes einzelne Tier die *AUC* mit SigmaPlot graphisch gezeichnet und berechnet. Mit Hilfe der einzelnen *AUC*-Werte wurden anschließend Gruppenvergleiche durchgeführt und graphisch dargestellt.

In den folgenden Tab. 19 und Abb. 36 sind diese Ergebnisse der statistischen Auswertung, die mit dem Computerprogramm SPSS 15.0 erstellt wurden, dargestellt.

Tab. 19: Vergleich der *AUC*-Werte von Ca_{tot} zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 35 und Abb. 36).

Gruppe	0mg	1mg	2mg	4mg
Tierzahl ohne Festl.	10	10	10	10
Mittelwert	24,24	23,20	23,21	22,81
Standardfehler des MW	0,50	0,45	0,39	0,43
Median	23,86	23,50	23,31	22,61
Standardabweichung	1,58	1,42	1,23	1,35
Varianz	2,51	2,01	1,52	1,82
Spannweite	5,03	4,11	3,57	4,68
Min	22,26	20,78	21,37	20,30
Max	27,29	24,89	24,94	24,98
25%	22,99	21,74	22,13	22,15
50%	23,86	23,50	23,31	22,61
75%	25,38	24,48	24,46	23,98

Auch durch die Berechnung der *AUC*-Werte von Gesamtcalcium der supplementierten Gruppen ergaben sich keine Signifikanzen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der größte Anteil der berechneten Werte lag auf einer Ebene mit der Kontrollgruppe (Abb. 36). Auch aus Tab. 19 waren keine relevanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe zu entnehmen. Die statistischen Auswertungen nach MANN-WITHNEY, nach WELCH und WILCOXON ergaben nur geringfügig signifikante Unterschiede am 1. Tag der Supplementation, sowie am 2.- und 3. Tag *post partum* zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe. An den übrigen Versuchszeitpunkten konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Vergleich der AUC-Werte von Gesamtcalcium

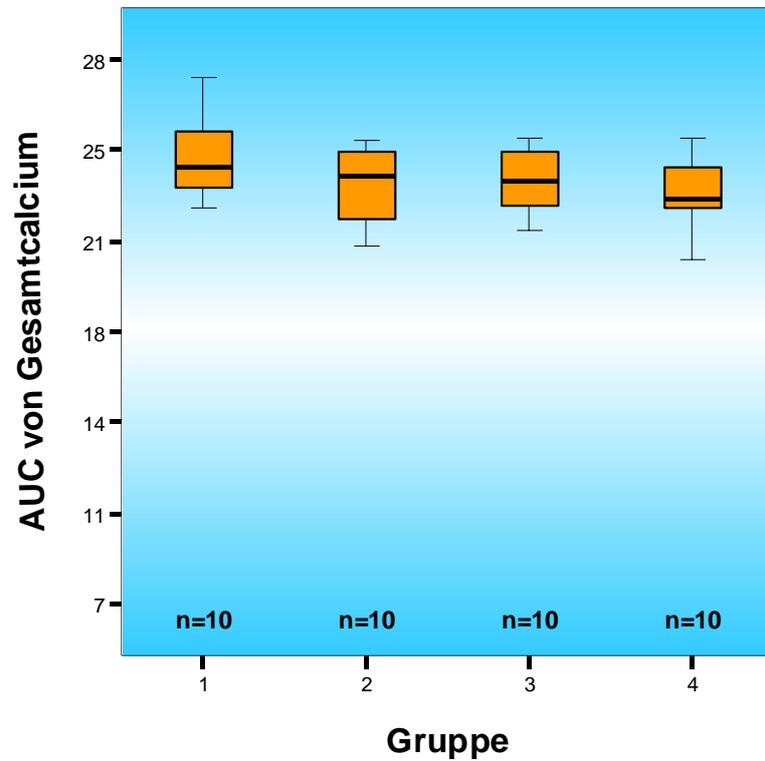


Abb. 36: Vergleich der AUC-Werte (Boxplots) von Ca_{tot} zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 35 und Tab. 19)].

4.5 Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D₃

In Abb. 37 sind die Mittelwerte der einzelnen Dosierungen von 25(OH)D₃ *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit abgebildet. Dabei wurde zusätzlich der Einfluss der behandelten Kühe aufgrund einer Hypocalcämie auf die Mittelwerte von 25(OH)D₃ vergleichend dargestellt.

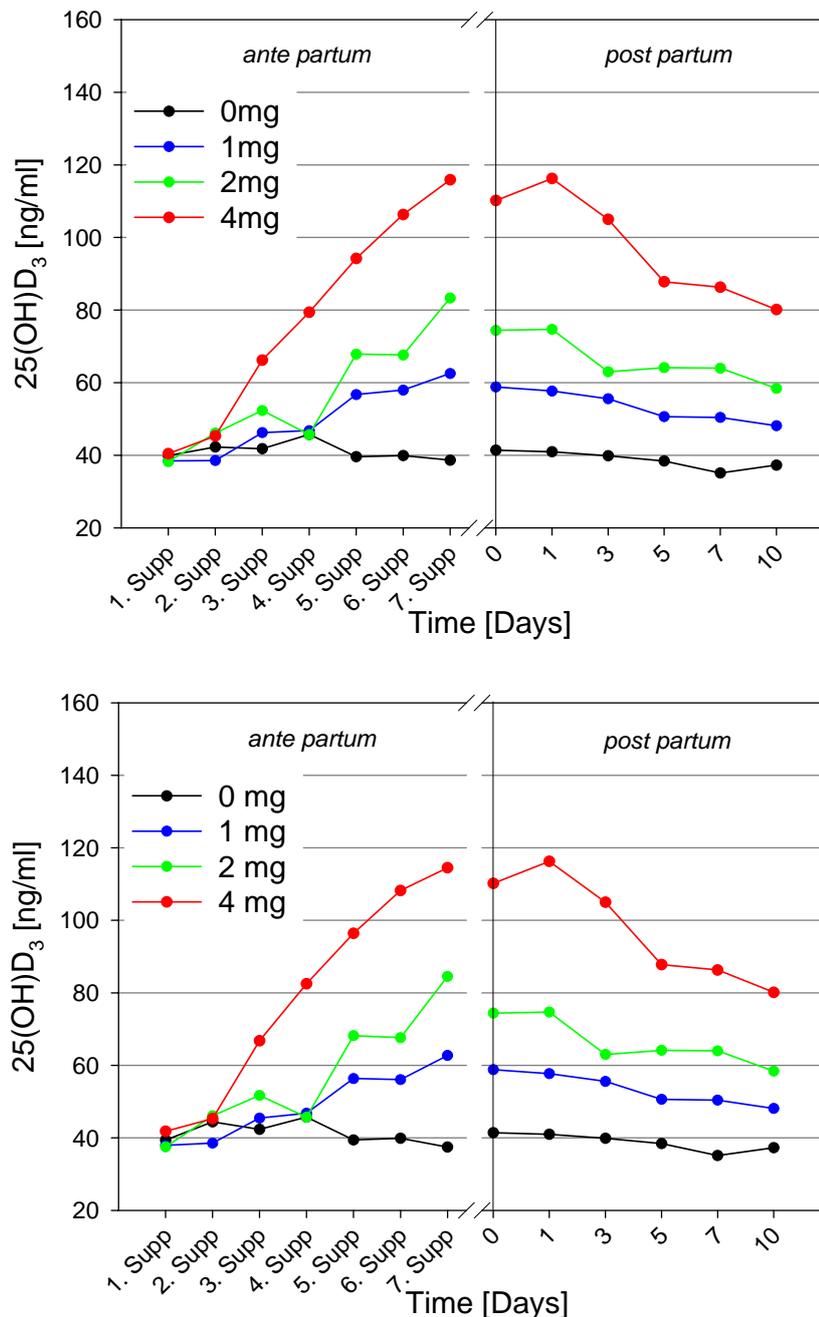


Abb. 37: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.

Dabei ist festzustellen, dass sich die Mittelwerte von 25(OH)D₃ der einzelnen Dosierungen *ante partum* deutlich voneinander unterscheiden. Am 1. Supplementationstag waren die Werte bei allen Dosierungen nahezu identisch (Abb. 37). Mit zunehmender Supplementationdauer und -menge erhöhte sich auch die Konzentration von 25(OH)D₃ im Blut. Diese Beobachtung galt jedoch nicht für die Kontrollgruppe. Diese wies im Vergleich zu den Versuchsgruppen am 7. Tag der Supplementation eine geringfügig niedrigere 25(OH)D₃ – Konzentration auf, als zu Beginn der Supplementation.

Vergleich der in Abb. 37 dargestellten Diagramme:

Abb. 37 oben: Während die Konzentrationen der supplementierten Gruppen *ante partum* kontinuierlich anstiegen, war bei der Kontrollgruppe ab dem 4. Supplementationstag ein leichter Konzentrationsabfall zu beobachten. Je höher die supplementierte Dosis von 25(OH)D₃ war, desto größer wurde der Unterschied zur Kontrolle (Abb. 37 und Tab. 21). Zum Zeitpunkt der Geburt fielen die Konzentrationen ein wenig ab. Sie blieben jedoch deutlich über dem Niveau der *antepartalen* Ausgangswerte. Somit waren bei den Mittelwerten deutlich signifikante Unterschiede zu erkennen (Tab. 21). Bei den Kontrolltieren ergab sich zum Zeitpunkt der Geburt mit 41.43 ng/ml die niedrigste 25(OH)D₃ – Konzentration, während die Gruppe, die mit 4.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war, mit 110.18 ng/ml die höchste 25(OH)D₃ – Konzentration aufwies. Mit einem Unterschied zwischen höchster und niedrigster 25(OH)D₃ – Konzentration von 68.75 ng/ml wurde ein deutlich signifikanter Unterschied nachgewiesen (Abb. 38 und Abb. 39).

Abb. 37 unten: Auch bei Betrachtung der Mittelwerte ausschließlich unbehandelter Tiere stieg die Konzentration bei der Gruppe, die mit 4.0 mg supplementiert worden war, am stärksten an. Der übrige Verlauf der 25(OH)D₃ – Konzentration war nahezu identisch zum Vergleichsdiagramm (Abb. 37 oben).

Zum Geburtszeitpunkt wurde bei allen Gruppen mit Ausnahme der 4.0 mg-Gruppe das *post-partale* Maximum erreicht. Je höher die 25(OH)D₃ – Dosierung, desto stärker war der *post-partale* Abfall (Abb. 38). Die Werte blieben aber mit Ausnahme der Kontrollgruppe deutlich über dem Niveau der *antepartalen* Ausgangswerte vor Beginn der Supplementation.

4.5.1 Statistische Auswertung von Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D₃

Die Erkenntnisse aus der graphischen Darstellung (Abb. 37), wurden mit dem MANN-WITHNEY-U-Test geprüft. Die statistische Analyse (Abb. 38) ergab eindeutig signifikante Unterschiede zwischen den supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch durch die statistische Überprüfung der 25(OH)D₃ – Mittelwerte (Abb. 37) und der errechneten AUC-Werte (Abb. 38) mit dem t-Test nach WELCH wurden bei allen Gruppen

an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen. Entsprechend der Dosierung ergaben sich z.T. deutlich höhere 25(OH)D₃ – Konzentrationen (siehe Abb. 37). Während der Supplementation war mit Ausnahme der Kontrollgruppe ein kontinuierlicher Anstieg der 25(OH)D₃ – Konzentration zu beobachten. Ab dem Zeitpunkt der Geburt kam es bei allen Gruppen mit Ausnahme der 4.0 mg-Gruppe zu einem plötzlichen Abfall bis zu den Minimalwerten. Je höher die supplementierte Dosis von 25(OH)D₃, desto größer war die Fläche der AUC (Abb. 38).

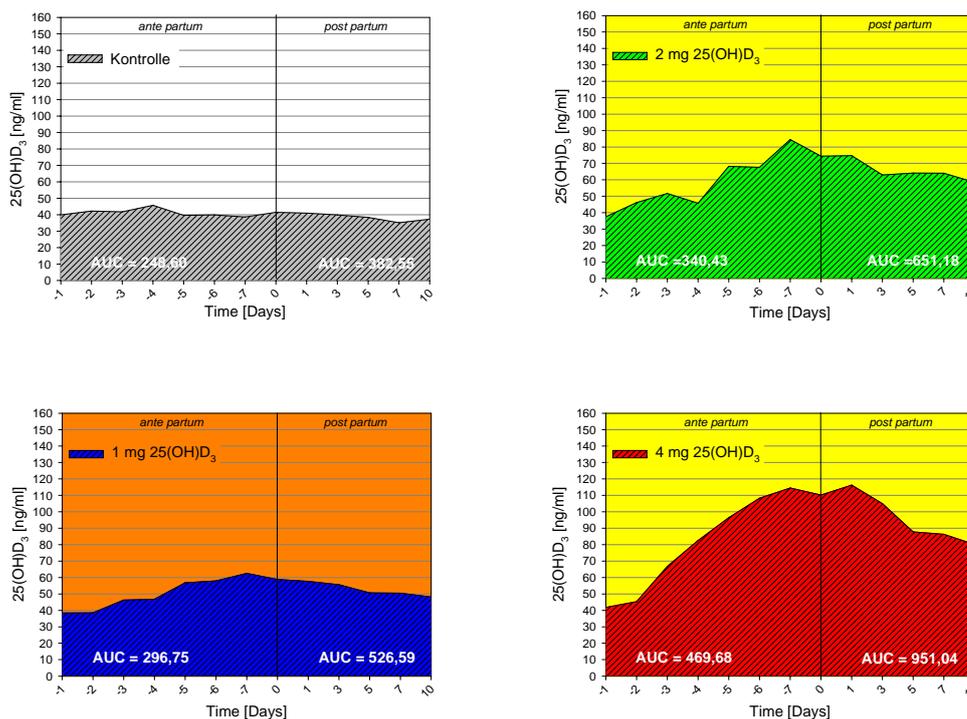


Abb. 38: Darstellung der AUC-Werte (schraffierter Bereich) von 25(OH)D₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Mit steigender Dosierung wurde sowohl *ante* als auch *post partum* eine viel höhere 25(OH)D₃ – Konzentration im Organismus der supplementierten Tiere erreicht als bei den Tieren der Kontrollgruppe (Abb. 38). Die festliegenden bzw. gegen Hypocalcämie behandelten Kühe wurden nur *ante partum* in die Analyse miteinbezogen.

4.5.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 25(OH)D₃

Vergleich der AUC-Werte von 25(OH)D₃

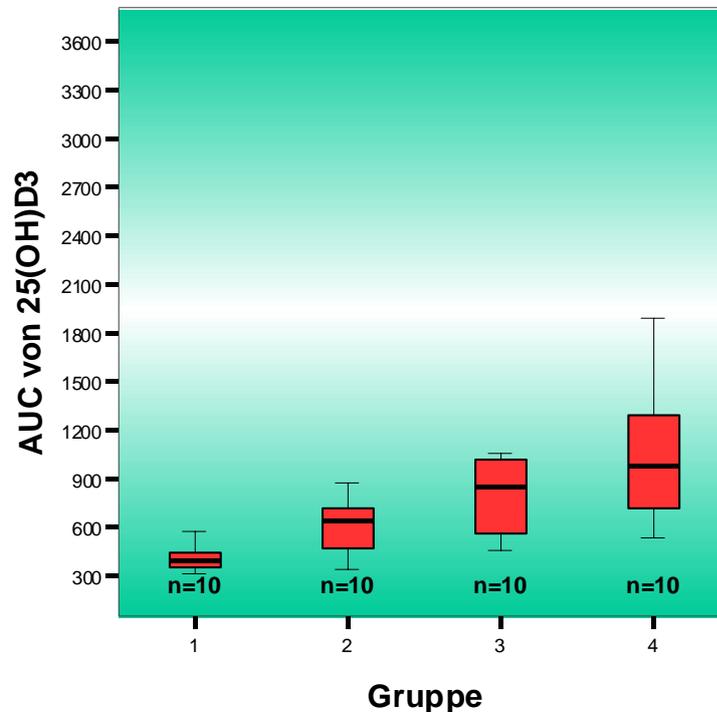


Abb. 39: Vergleich der *AUC*-Werte (Boxplots) von 25(OH)D₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 38 und Tab. 20)].

Auch im Experiment 2 ergaben sich zwischen der Dosis und den Konzentrationen von 25(OH)D₃ im Blut die erwarteten Zusammenhänge analog zu Experiment 1. Je höher die Dosierung und je länger die Dosierungsdauer, desto höher war die 25(OH)D₃ – Konzentration im Blut (Abb. 37). Es wurde vor der Abkalbung kein „*steady state*“ erreicht. Ferner zeigte sich bei der Kontrollgruppe *ante-* und *peripartal* ein Abfall der 25(OH)D₃ – Konzentration, während die Gruppen, die supplementiert worden waren, *anteperartal* einen Anstieg in der 25(OH)D₃ – Konzentration aufwiesen, wobei sich mit steigender Dosierung ein vermehrter Anstieg ergab (Abb. 37). Entsprechendes ergaben auch die *AUC*-Werte, die in Abb. 38, Abb. 39 und Tab. 20 graphisch sowie tabellarisch dargestellt wurden. Anhand der Mediane der einzelnen Gruppen ist festzustellen, dass mit steigender Dosis auch die Größe der *AUC* zunimmt (Abb. 38 und Abb. 39). Alle berechneten Werte der *AUC* von 25(OH)D₃ der supplementierten Gruppen liegen deutlich über denen der Kontrollgruppe. Mit Hilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests wurden signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe

und den einzelnen Versuchsgruppen nachgewiesen (Abb. 38 und Abb. 39). Auch durch die statistische Überprüfung mit dem t-Test nach WELCH konnten bei allen Gruppen an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

Als Ergänzung zu den Abb. 37 - Abb. 39 und den bisher ausgeführten Ergebnissen sind in Tab. 20 und Tab. 21 die statistischen Daten (mit SPSS berechnet) und Unterschiede zu den wichtigsten Zeitpunkten zwischen den supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe nochmals zusammengefasst.

Tab. 20: Vergleich der AUC-Werte von 25(OH)D₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 38 und Abb. 39).

Gruppe	0mg	1mg	2mg	4mg
Tierzahl ohne Festl.	10	10	10	10
Mittelwert	412,32	621,16	793,65	1055,60
Standardfehler des MW	28,46	56,05	78,96	142,66
Median	387,25	643,92	842,23	982,95
Standardabweichung	89,99	177,25	249,70	451,12
Varianz	8098,61	31418,80	62352,42	203511,00
Spannweite	264,68	529,06	596,94	1349,50
Min	314,48	341,88	456,15	534,68
Max	579,16	870,94	1053,09	1884,18
25%	342,87	451,30	544,89	686,65
50%	387,25	643,92	842,23	982,95
75%	469,18	752,97	1023,00	1372,04

Tab. 21: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D₃, ng/ml] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle (Vgl. auch Abb. 37).

Time	0 mg	1 mg	Vgl. zur Kontrolle	2 mg	Vgl. zur Kontrolle	4 mg	Vgl. zur Kontrolle
1. Supp	39,91	38,43	=	38,24	=	40,43	=
7. Supp	38,64	62,53	↑	83,34	↑↑	115,92	↑↑↑
0	41,43	58,82	↑	74,40	↑↑	110,18	↑↑↑
1. d <i>p.p.</i>	40,97	57,69	↑	74,71	↑↑	116,26	↑↑↑
10. d <i>p.p.</i>	37,30	48,13	↑	58,42	↑	80,15	↑↑

Legende Tab. 21:

= kein Unterschied;

↑ ggr. Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle;

↑↑ mgr. Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle;

↑↑↑ hgr. Erhöhung der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle.

4.6 Dihydroxycholecalciferol – 1,25(OH)₂D₃

In Abb. 40 sind die Mittelwerte der Konzentrationen von 1,25(OH)₂D₃ *ante* und *post partum* in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Zum Vergleich ist zusätzlich der Einfluss der Hypocalcämie-behandelten Kühe auf die Mittelwerte von 1,25(OH)₂D₃ dargestellt.

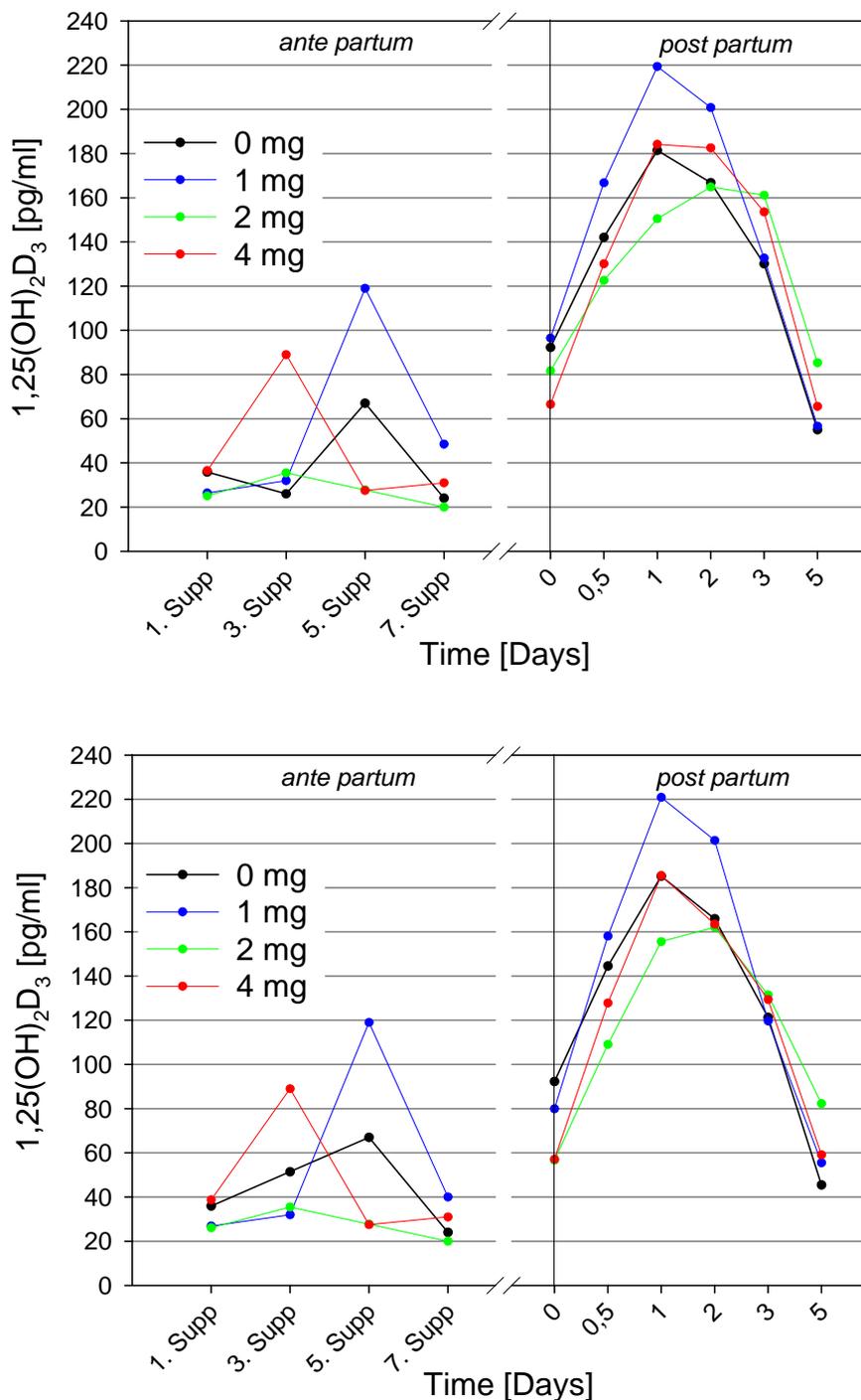


Abb. 40: Mittelwerte der Dihydroxycholecalciferolkonzentrationen [1,25(OH)₂D₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.

Aus den vorliegenden Diagrammen ist zu entnehmen, dass sich die Mittelwerte der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen der einzelnen Dosierungen und der Kontrollgruppe kaum voneinander unterschieden. Wie schon bei $25(\text{OH})\text{D}_3$ festzustellen war, waren auch hier die Werte am 1. Supplementationstag bei allen Dosierungen fast identisch (Abb. 40). *Ante partum* wiesen die Kurven deutlich größere Schwankungen auf, als dies in Experiment 1 der Fall war. Bis auf die Gruppe, die mit 2.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden war, wiesen alle anderen Gruppen *ante partum* höhere $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen auf als die Kontrollgruppe. *Ante partum* wurden durchschnittliche Konzentrationen von 69.50 pg/ml (ibT bzw. ebT) erreicht. Zum Geburtszeitpunkt hin stiegen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen stark an.

Vergleich der in Abb. 40 dargestellten Diagramme:

Abb. 40 oben: Die Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ der Kontrollgruppe und der mit 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementierten Gruppe unterschieden sich bei der Abkalbung nur geringfügig. Die Tiere, die mit 2.0 mg- und 4.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden waren, lagen mit einem Mittelwert von 81.67 bzw. 66.50 pg/ml annähernd gleich auf, jedoch deutlich unter dem Konzentrationsniveau der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Geburt (92.25 pg/ml). Von der Abkalbung an nahmen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen stark zu und erreichten ihr Maximum, mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe, 24 h *p.p.*. Die Abweichung von 54.59 pg/ml zwischen höchster (1.0 mg-Gruppe) und niedrigster (2.0 mg-Gruppe) Konzentration der untersuchten Gruppen war deutlich höher als in Experiment 1. Mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe fielen die Konzentrationen 24 h *p.p.* stark ab. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte blieben aber deutlich über dem Konzentrationsniveau der *antepartalen* Ausgangswerte.

Ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen war optisch nur 24 h *p.p.* zu erkennen. Dabei waren die Gruppen, die mit 1.0 mg- und 4.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert wurden, mit einem Mittelwert von 219.42 bzw. 184.17 pg/ml ein wenig höher als die Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 181.42 pg/ml. Die 2.0 mg-Gruppe erreichte ihren Maximalwert am 2. Tag *post partum* und wies mit 164.83 pg/ml den niedrigsten Wert auf.

Abb. 40 unten: Die Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ der Kontrollgruppe und der mit 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementierten Gruppe unterschieden sich bei der Abkalbung nur geringfügig. Die Tiere, die mit 2.0 mg- und 4.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden waren lagen mit einem Mittelwert von 56.70 bzw. 57.10 pg/ml gleich auf, aber deutlich unter dem Konzentrationsniveau der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Geburt (92.30 pg/ml). Von der Abkalbung an nahmen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen stark zu und erreichten ihr Maximum 24 h *p.p.*. Die Abweichung von 58.80 pg/ml zwischen höchster (1.0 mg-Gruppe)

und niedrigster (2.0 mg-Gruppe) Konzentration der untersuchten Gruppen war deutlich höher als in Experiment 1. Mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe fielen die Konzentrationen 24 h *p.p.* stark ab. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte blieben aber deutlich über dem Konzentrationsniveau der *antepartalen* Ausgangswerte.

Ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen war optisch nur 24 h *p.p.* zu erkennen. Dabei waren die Gruppen, die mit 1.0 mg- und 4.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert wurden, mit einem Mittelwert von 220.90 bzw. 185.50 pg/ml ein wenig höher als die Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 185.20 pg/ml. Die 2.0 mg-Gruppe erreichte ihren Maximalwert am 2. Tag *post partum* und wies mit 162.10 pg/ml den niedrigsten Wert auf.

Ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen war nur am 1.- und 2. Tag *post partum* zu erkennen. Dabei war die 1.0 mg-Gruppe deutlich höher als die Kontrollgruppe. Im Vergleich zu Experiment 1 fiel auf, dass die Maximalwerte einen Tag früher erreicht wurden, was als positiv zu bewerten ist.

4.6.1 Statistische Auswertung der Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Bei der statistischen Auswertung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen wurden nur Daten ab dem Geburtszeitpunkt in der Auswertung berücksichtigt. Hypocalcämie-behandelte Kühe wurden nicht in die Analyse miteinbezogen. Hierfür wurden die AUC-Werte in den Diagrammen der Abb. 41 mithilfe der Mittelwerte der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen der einzelnen Gruppen in SigmaPlot graphisch dargestellt und berechnet.

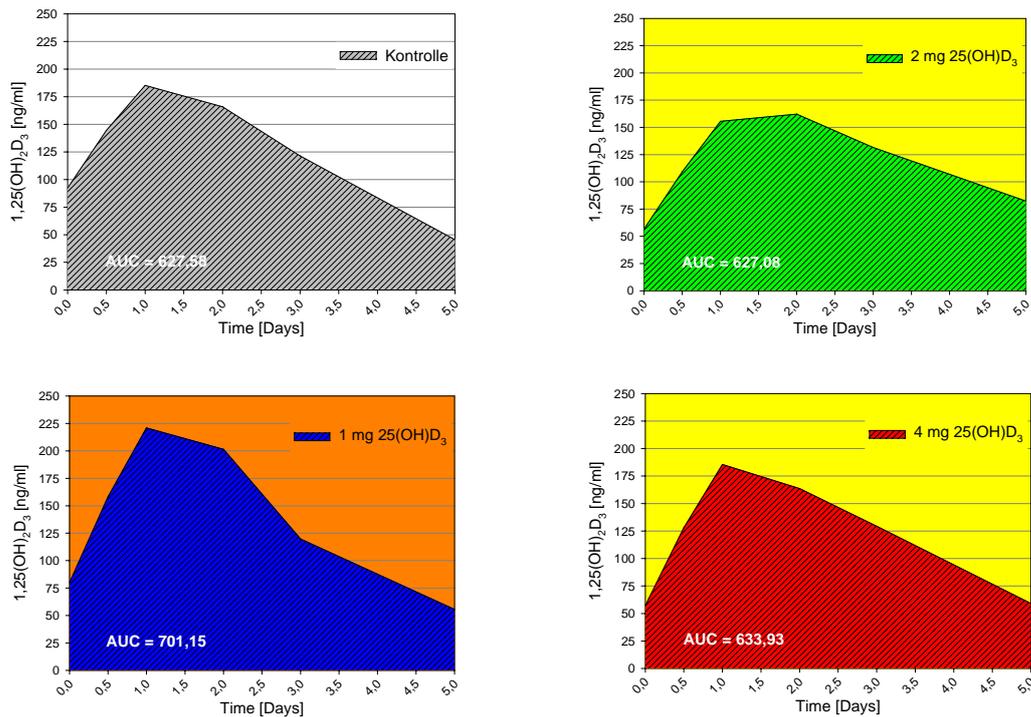


Abb. 41: Darstellung der *AUC*-Werte (schraffierter Bereich) von 1,25(OH)₂D₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Auch im Experiment 2 fanden sich bei den mit 1.0 mg 25(OH)D₃ supplementierten Tieren statistisch die größten Abweichungen zur Kontrollgruppe (Abb. 42 und Tab. 22). Innerhalb der einzelnen Gruppen gab es jedoch im Kurvenverlauf der 1,25(OH)₂D₃ – Werte nur geringfügige Unterschiede (Abb. 40). Die graphischen Erkenntnisse der *AUC*-Werte konnten anhand des MANN-WITHNEY-U-Tests und t-Tests nach WELCH bestätigt werden (Abb. 41). Auch mittels statistischer Überprüfung der einzelnen 1,25(OH)₂D₃ – Mittelwerte (Abb. 40) mit dem t-Test nach WELCH wurde nur bei der 2.0 mg-Gruppe am 5. Tag *post partum* ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen. Es gibt demnach keine Unterschiede in Bezug auf Dosis und Wirkung zwischen den supplementierten Tieren und den Kontrolltieren (Abb. 42). Im Vergleich zu Experiment 1 kann im Experiment 2 eine Zunahme der *AUC*-Größe mit steigender 25(OH)D₃ – Dosis nicht beobachtet werden (Abb. 41 und Tab. 22).

4.6.2 Zusammenfassung der Ergebnisse von 1,25(OH)₂D₃

In Abb. 42 sind alle Ergebnisse der statistischen Auswertung aufgeführt. Wie schon aufgrund der Darstellung der Ergebnisse in der Abb. 40 zu vermuten war, gab es auch anhand des MANN-WITHNEY-U-Tests keine signifikanten Unterschiede zwischen den 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen der einzelnen Gruppen. Auch die statistische Überprüfung der 1,25(OH)₂D₃ – Mittelwerte und der AUC-Werte mit dem t-Test nach WELCH bestätigte diese Aussage.

Tab. 22: Vergleich der AUC-Werte von 1,25(OH)₂D₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag *p.p.* (Vgl. auch Abb. 41 und Abb. 42).

Gruppe	0mg	1mg	2mg	4mg
Tierzahl ohne Festl.	10	10	10	10
Mittelwert	627,58	701,15	627,08	633,93
Standardfehler des MW	52,04	81,53	66,80	50,04
Median	656,63	554,88	617,63	596,50
Standardabweichung	164,55	257,82	211,23	158,23
Varianz	27077,04	66470,43	44619,36	25036,71
Spannweite	502,50	717,25	673,75	489,00
Min	408,75	480,25	300,50	373,00
Max	911,25	1197,50	974,25	862,00
25%	464,44	514,25	444,19	510,19
50%	656,63	554,88	617,63	596,50
75%	739,06	904,19	826,06	792,38

Die 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen ergaben *ante partum* einen Mittelwert von 69.50 pg/ml (ibT bzw. ebT). Im Vergleich zu Experiment 1 (17.84 pg/ml, ibT bzw. 15.99 pg/ml ebT) entsprach das einem deutlich höheren 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationsniveau. Bei der Abkalbung stiegen die 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen der Kühe erheblich an und erreichten ihr Maximum, mit durchschnittlich 192.13 pg/ml (ibT) bzw. 191.50 pg/ml (ebT) mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe, 24 h *p.p.*. Danach fielen sie wieder ab, wobei die Konzentrationen der *antepartalen* Ausgangswerte deutlich übertroffen wurden.

Die Beobachtung aus Experiment 1 (mind. 21 Supplementationstage), dass bei der Betrachtung der AUC-Werte (Abb. 42 und Tab. 22) anhand der Mediane der einzelnen Gruppen die AUC-Werte mit steigender Dosis zunahmen, konnte in Experiment 2 (max. 7 Supplementationstage) nicht bestätigt werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der 25(OH)D₃-AUC-Werte, lagen die Mittelwerte der AUC-Werte von 1,25(OH)₂D₃ bei den

supplementierten Gruppen mit Ausnahme der 1.0 mg-Gruppe nicht so deutlich über denen der Kontrollgruppe.

Insgesamt ergaben sich für die *postpartalen* $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen analog zu $25(\text{OH})\text{D}_3$ höhere Konzentrationen als *antepartal*. Mit Hilfe des MANN-WITHNEY-U-Tests und des t-Tests nach WELCH wurde nur ein einziger signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen nachgewiesen.

Vergleich der AUC-Werte von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

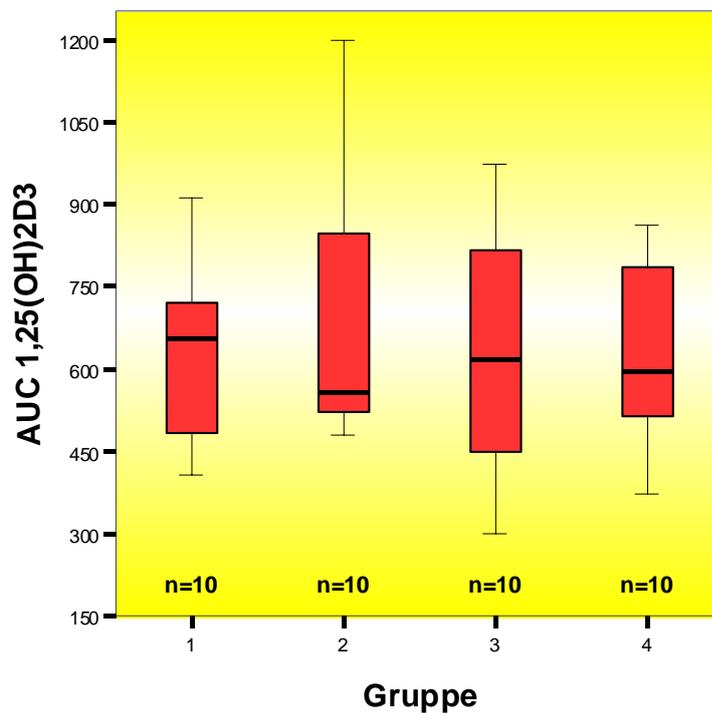


Abb. 42: Vergleich der AUC-Werte (Boxplots) von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 41 und Tab. 22)].

5. DISKUSSION

5.1 Die Gebärparese der Milchkuh

Nach wie vor gehört die Gebärparese (Milchfieber, Festliegen) in der Milchwirtschaft zu den häufigsten und verlustreichsten *peripartalen* Stoffwechselerkrankungen des Rindes. Dabei sind vor allem Hochleistungstiere mit dem Einsetzen der Laktation nicht mehr in der Lage, den plötzlichen und hohen Ca-Bedarf mit den regulären homöostatischen Regulationsmechanismen des Körpers auszugleichen (Horst *et al.*, 2005). Die Gebärparese verursacht weltweit hohe finanzielle Verluste (Littledike *et al.*, 1981). Horst *et al.* bezifferten bereits 1997 jede einzelne Gebärpareserkrankung in den USA mit einem Verlust von 334 \$/Tier (Horst *et al.*, 1997). Das große ökonomische Interesse durch die sinkende Produktivität basiert vor allem auch auf das gehäufte Auftreten der subklinischen Form der Hypocalcämie (~50% Inzidenzrate) mit den daraus entstehenden sekundären Folgeerscheinungen wie z.B. erhebliche Einbußen durch Milchverlust in den Folgelaktationen, Fruchtbarkeitsstörungen, erhöhte Inzidenz für Ketosen und Mastitiden usw. (siehe 2.5.7) (Curtis *et al.*, 1983; Goff, 2008).

5.1.1 Prophylaktische Möglichkeiten

Aufgrund der großen wirtschaftlichen Bedeutung der Gebärparese werden weltweit erhebliche Anstrengungen unternommen, um wirksame Prophylaxemaßnahmen (DCAB-Konzept, Ca-Gele, restriktives Ca-Angebot in der Trockenstehperiode, Ca-Fänger) zu entwickeln (siehe 2.5.9). Bis heute haben sich jedoch nur wenige Methoden etabliert.

Grundsätzlich müssen artgerechte Fütterungs- und Haltungsbedingungen eingehalten werden, um die folgenden Prophylaxen wirksam und erfolgreich einsetzen zu können. Eine strenge Konditionierung der Tiere während der Trockenstehperiode und eine bedarfsgerechte Fütterung im übrigen Zeitraum werden dabei vorausgesetzt (siehe 2.5.9). Die Praxis kann diese Bedingungen jedoch nicht immer erfüllen, sodass in vielen Fällen zusätzlich individuelle Beratung durch den Tierarzt unumgänglich ist.

5.2 Vitamin D

Seit Beginn des 20. Jahrhunderts ist die Bedeutung von Vitamin D für die Ca-Homöostase bekannt und man nahm zunächst an, dass Vitamin D direkt auf den Knochenstoffwechsel und den Darm einwirkt. Untersuchungen der letzten Jahrzehnte haben jedoch gezeigt, dass einige Umbauprozesse des aufgenommenen Vitamin D notwendig sind, um mit der gebildeten aktiven Vitamin D-Form Einfluss auf die Ca-Homöostase nehmen zu können (Horst und Reinhardt, 1983; Horst *et al.*, 2005). Bei den Metaboliten des Vitamin D handelt es sich um 25(OH)D₃ und um die eigentlich aktive Form des Vitamin D 1,25(OH)₂D₃.

5.2.1 Effekte von Vitamin D bzw. dessen Metaboliten auf den Ca-Haushalt der Kuh

Nach bisherigen Erkenntnissen beeinflusst die orale Supplementierung mit Vitamin D oder dessen Metaboliten die Konzentrationen von Calcium, Magnesium und Phosphat im Serum (Hibbs und Pouden, 1955; Olson *et al.*, 1973; Horst und Littledike, 1979; Karges *et al.*, 2001; Rivera *et al.*, 2005). Aus aktuellen Studien geht hervor, dass durch die Supplementierung mit 25(OH)D₃ in höheren Dosierungen (15.0 mg bzw. 40.0 mg 25(OH)D₃/d) ein Anstieg der Ca-Konzentrationen im Blut induziert werden kann (Kosmol, 2007). Aus früheren Studien ist bekannt, dass eine Vitamin D-Verabreichung [Vitamin D, 25(OH)D₃ oder 1,25(OH)₂D₃] die Ca-Konzentration im Serum nachhaltig beeinflusst (Hibbs und Pouden, 1955; Olson *et al.*, 1973; Frank, 1977; Jorgensen, N. A. *et al.*, 1978; Gast *et al.*, 1979; Hove und Kristiansen, 1982; Hove und Kristiansen, 1984; Karges *et al.*, 2001) (siehe auch Tab. 1 und Tab. 2). Diese Befunde überraschen nicht, da 1,25(OH)₂D₃ eine große Bedeutung bei der Regulation des Ca-Haushalts hat. Dennoch hat sich die orale Applikation von Vitamin D₃, von 25(OH)D₃ oder 1,25(OH)₂D₃ zur Prophylaxe der Gebärparese bislang nicht durchgesetzt, da sich bei den zahlreichen Versuchen mit diesem Prophylaxeansatz folgende Erkenntnisse ergeben haben, die einer Anwendung in der Praxis entgegenstehen (Vgl. 2.4):

- a) Die Spanne zwischen wirksamer und toxischer Menge ist sehr eng (Horst *et al.*, 2003; Goff, 2006b; Goff, 2008; Taylor *et al.*, 2008).
- b) Eine Wirkung wurde nur erzielt, wenn zum richtigen Zeitpunkt die richtige Dosis mit der korrekten *antepartalen* Supplementationsdauer gewählt wurde. Die Abkalbung muss in **den** Zeitrahmen fallen, in dem positive Effekte der Supplementierung auf den Ca-Haushalt zu erwarten sind.
- c) Das limitierte Zeitfenster ergibt sich aufgrund der physiologischen Gegenregulationsmaßnahmen, die ausgelöst werden, wenn durch die Supplementierung [Vitamin D₃, 25(OH)D₃ oder 1,25(OH)₂D₃] eine Hypercalcämie induziert wird (Taylor *et al.*, 2008). Da Calcium in hohen Konzentrationen toxisch ist (siehe Kalzinose), sind entsprechende Gegenregulationsmaßnahmen nach einer Hypercalcämie zu erwarten und auch notwendig. Diese Zusammenhänge sind sehr überzeugend von Dirksen *et al.* (2003) dokumentiert worden (Dirksen *et al.*, 1972; Littledike und Horst, 1982; Dirksen *et al.*, 2003; Mello, 2003). Ferner konnte die bekannte Beziehung zwischen Hypocalcämie und Anstieg von 1,25(OH)₂D₃ nach der Abkalbung in Versuchen mit Kühen nicht beobachtet werden, denen zur Prophylaxe der Gebärparese *antepartal* Vitamin D bzw. dessen Metabolite verabreicht wurden. Es kam trotz vorliegenden Hypocalcämien **nicht** zu einem signifikanten Anstieg von

1,25(OH)₂D₃, sondern es lagen unabhängig von der Blutcalciumkonzentration gleich bleibend sehr niedrige, offensichtlich herunterregulierte 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen vor. Diese Reaktionskaskade hat wahrscheinlich in den Studien von *Little dike et al.* (1982) zu zahlreichen Hypocalcämien und Milchfieber 10 - 14 Tage *post partum* geführt (Horst *et al.*, 1997; Horst *et al.*, 2003; Horst *et al.*, 2005). Dabei zeigte sich, dass die Tiere durch den hemmenden Effekt z.T. eine Woche lang nicht mehr in der Lage waren, endogenes 1,25(OH)₂D₃ zu bilden. Das lässt sich mit Studien von *Ritter et al.* (2006) und *Harkness et al.* (2005) erklären, die eine negative Korrelation zwischen 25(OH)D₃ und PTH beschreiben, wodurch eine 25(OH)D₃ – Supplementierung zwar zu einer Erhöhung der 25(OH)D₃ – Konzentration im Blut führt, jedoch gleichzeitig eine direkte Absenkung der PTH-Sekretion und der renalen 1,25(OH)₂D₃ – Synthese initiiert (Harkness und Cromer, 2005; Ritter *et al.*, 2006). Als Folge dieses direkten Feedback-Mechanismus stellte sich bei den hypocalcämischen Kühen keine Besserung mehr ein (Horst *et al.*, 2005; Goff, 2006b; Goff, 2008).

Eine Supplementation mit Vitamin D oder dessen Metaboliten muss diese Erkenntnisse berücksichtigen, wenn sie mit Erfolg eingesetzt werden soll. Die Dosierung sollte daher so gewählt werden, dass

- a) keine, durch eventuelle Gegenregulationsmaßnahmen ausgelöste Erhöhung der Blutcalciumkonzentration auftritt
- b) positive Regulationsmechanismen [hier die Umsetzung von 25(OH)D₃ zu 1,25(OH)₂D₃] erleichtert werden durch erhöhte Verfügbarkeit von 25(OH)D₃ nach oraler Supplementation
- c) eine Balance zwischen erhöhter Verfügbarkeit und Ausbildung von möglichen Geweberesistenzen bei 25(OH)D₃ – Überdosierung hergestellt wird.

Diese „erhöhte Verfügbarkeit“ erfordert eine gewisse Supplementationsdauer, damit eine 25(OH)D₃ – Konzentrationserhöhung im Blut erfolgt und das vorhandene 25(OH)D₃ vollständig ohne Initiierung von Geweberesistenzen in die aktive Form umgewandelt werden kann (Goff *et al.*, 1995).

Die durchgeführten Versuche hatten zum Ziel, diese Optimierung der Supplementation (Dosis und Zeit) mit 25(OH)D₃ zu erreichen. Wie die Versuchsergebnisse gezeigt haben, wurde dieses Versuchsziel nur zum Teil erreicht.

5.2.2 25-Hydroxycholecalciferol – 25(OH)D₃

Wie auch bei *Taylor et al.* (2008) wurden im Gegensatz zu den Ergebnissen der Serumelektrolyte bei den 25(OH)D₃ – Konzentrationen deutliche Unterschiede bei den supplementierten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen (*Taylor et al.*, 2008).

5.2.2.1 Experiment 1

Zu Beginn des Versuchs lagen die 25(OH)D₃ – Mittelwerte von Versuchs- und Kontrolltieren auf einem nahezu identischen Konzentrationsniveau innerhalb des von *Horst et al.* (2003) angegebenen Referenzbereiches (30 - 50 ng/ml) bei 39.43 ng/ml (inkl. behandelter Tiere; ibT) und 37.56 ng/ml (exkl. behandelter Tiere; ebT). Zum Zeitpunkt der Geburt bis 24 h *p.p.* wurden die Maximalwerte erreicht. Die höchsten 25(OH)D₃ – Konzentrationen zeigten sich mit einem durchschnittlichen Wert von 145.09 ng/ml (ibT) bzw. 137.63 ng/ml (ebT) bei der Gruppe, die mit 2.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war. Bei der Kontrollgruppe wurden hingegen nur Werte von 43.59 ng/ml (ibT) bzw. 43.18 ng/ml (ebT) beobachtet. Erwartungsgemäß erhöhten sich mit zunehmender Supplementationsdauer die 25(OH)D₃ – Konzentrationen im Blut im Sinne einer Dosis-Wirkungs-Kurve analog zu Studien von *Taylor et al.* (2008) (siehe Abb. 20 bis Abb. 22 und Tab. 16) (*Taylor et al.*, 2008).

5.2.2.2 Experiment 2

Wie im Experiment 1 lagen zu Beginn des Versuches die 25(OH)D₃ – Mittelwerte von Versuchs- und Kontrolltieren mit 39.25 ng/ml (ibT) bzw. 39.51 ng/ml (ebT) innerhalb des Referenzbereiches (*Horst et al.*, 2003). Zum Zeitpunkt der Geburt bis 24 h *p.p.* wurden die Maximalwerte erreicht. Die höchsten 25(OH)D₃ – Konzentrationen zeigten sich mit einem durchschnittlichen Wert von 114.11 ng/ml (ibT) bzw. 116.26 ng/ml (ebT) bei der Gruppe, die mit 4.0 mg 25(OH)D₃ supplementiert worden war. Bei der Kontrollgruppe betrug die 25(OH)D₃ – Konzentration 41.44 ng/ml (ibT) bzw. 41.43 ng/ml (ebT). Auch in diesem Versuch erhöhten sich analog zu Experiment 1 mit zunehmender Supplementationsdauer die 25(OH)D₃ – Konzentrationen im Blut im Sinne einer Dosis-Wirkungs-Kurve (siehe Abb. 37 bis Abb. 39 und Tab. 21).

Somit bestätigen die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse die Beobachtungen anderer Autoren, dass sich eine zusätzliche Aufnahme von 25(OH)D₃ über das Futter positiv auf die 25(OH)D₃ – Konzentration im Blut auswirkt (*Hibbs und Pouden*, 1955; *Bringe et al.*, 1971; *Hibbs und Conrad*, 1976; *Wertz et al.*, 2004; *Kosmol*, 2007; *Taylor et al.*, 2008). Eine verkürzte Supplementationsdauer von maximal 7 Tagen (Experiment 2) initiierte dabei nicht so hohe 25(OH)D₃ – Konzentrationen wie eine Supplementationsdauer von mindestens 21 Tagen (Experiment 1). Das geht konform mit Studien von *Littledike et al.* (1982), die

zeigten, dass eine längere Supplementationsperiode zu höheren $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen bis hin zur Intoxikation führen kann (Vgl. **2.4**) (Littledike und Horst, 1982).

Die statistische Analyse der $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen in Experiment 1 und 2 mit dem MANN-WITHNEY-U-Test und dem t-Test nach WELCH ergaben mit Ausnahme bei der 0.5 mg-Gruppe an nahezu allen Untersuchungszeitpunkten signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe (Vgl. **4.2.1**).

Taylor et al. (2008) stellten in Studien fest, dass Kühe die mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ behandelt wurden, im Vergleich zu den Kontrolltieren zu geringeren PTH-Konzentrationen neigten (*Taylor et al.*, 2008). Trotz erhöhter $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen im Blut der supplementierten Kühe (119.0 ng/ml) im Vergleich zu den Kontrolltieren (69.3 ng/ml) ergaben sich keine positiven Effekte auf den Plasma-Calcium-Spiegel (*Taylor et al.*, 2008). In den eigenen Untersuchungen lagen die $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen in der höchsten Dosierung im Vergleich zur Kontrollgruppe um das 3.32-fache (Experiment 1) bzw. das 2.75-fache (Experiment 2) höher. Trotzdem wurde kein Einfluss auf den Plasma-Calcium-Spiegel festgestellt.

5.2.3 Dihydroxycholecalciferol – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

5.2.3.1 Experiment 1

Zu Beginn der Studie lagen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Mittelwerte von Versuchs- und Kontrolltieren durchschnittlich bei 17.84 pg/ml (ibT) bzw. 15.99 pg/ml (ebT). In diesem Versuch verursachte keine der drei $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Dosierungen Veränderungen der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen im Verlauf der Supplementation. Während der gesamten Versuchszeit vor der Abkalbung verliefen alle $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen nahezu parallel zueinander. Zum Zeitpunkt der Geburt stiegen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen unabhängig von der Dosierung stark an. Dabei wies die Kontrollgruppe im Vergleich zu den mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementierten Gruppen die höchsten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen auf (Abb. 23). 48 h *p.p.* wurden bei allen Gruppen die Maximalwerte erreicht, bevor die Konzentrationen stark abfielen. Die höchsten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen zeigten sich zu diesem Zeitpunkt (48 h *p.p.*) mit Werten von 191.00 pg/ml (ibT) bzw. 201.30 pg/ml (ebT) bei der Gruppe, die mit 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden ist (Abb. 23). Mit dem Anstieg der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen nach der Abkalbung wurde somit im Gegensatz zu den bisher durchgeführten Versuchen das gewünschte Versuchsziel in der Weise erreicht, dass zumindest eine Gegenregulation, welche die Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unterdrückt, durch die Supplementation mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ nicht induziert wurde. Offensichtlich wird die $25(\text{OH})\text{D}_3$ - 1α -Hydroxylase nicht herunterreguliert.

5.2.3.2 Experiment 2

Zu Beginn des Versuches ergaben sich $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Mittelwerte bei den Versuchs- und Kontrolltieren von durchschnittlich 69.50 pg/ml (ibT bzw. ebT). In diesem Versuch verursachten alle Dosierungen von $25(\text{OH})\text{D}_3$ mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe deutliche Veränderungen der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen im Verlauf der Supplementation. *Ante partum* wiesen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen erhebliche Schwankungen auf. Zum Zeitpunkt der Geburt stiegen die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen unabhängig von der Dosierung stark an. Dabei wies die 1.0 mg-Gruppe (Abb. 40; ibT) bzw. die Kontrollgruppe (Abb. 40; ebT) im Vergleich zu den anderen Gruppen die höchsten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen auf. 24 h *p.p.* wurden bei allen Gruppen mit Ausnahme der 2.0 mg-Gruppe die Maximalwerte erreicht, bevor die Konzentrationen stark abfielen. Die höchsten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen zeigten sich dabei mit einem Wert von 219.42 pg/ml (ibT) bzw. 220.90 pg/ml (ebT) bei der Gruppe, die mit 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ supplementiert worden war (Abb. 40).

Die statistischen Auswertungen nach MANN-WITHNEY und WELCH ergaben nur einen geringfügig signifikanten Unterschied am 5. Tag *post partum* zwischen der 2.0 mg-Gruppe und der Kontrollgruppe. An den übrigen Versuchszeitpunkten wurden keine Unterschiede der einzelnen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Werte zwischen Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen festgestellt.

Die konstanten Werte für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu Beginn der Supplementation und unmittelbar vor der Abkalbung, unabhängig von der $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Dosierung, lassen klar erkennen, dass die Bildung des wirksamen Metaboliten von Vitamin D_3 sehr genau reguliert wird. Die großen *antepartalen* Schwankungen im Experiment 2 resultieren vermutlich aus einem unterschiedlichen Probenanalyseintervall im Vergleich zu Experiment 1 (Analysezeitpunkte: Exp. 1 = 1., 22., 25. Tag der Suppl.; Exp. 2 = 1., 3., 5., 7. Tag der Suppl.). Um eine genauere Aussage über die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Synthese treffen zu können, müsste deshalb eine Probenanalyse in kürzeren Abständen (evtl. täglich) erfolgen.

Die durch die Supplementation erhöhten $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen im Blut sind offensichtlich nicht hoch genug, um eine $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Bildung zu induzieren bzw. eine $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Wirkung zu erzielen (Horst und Reinhardt, 1983). Die Regulation der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Synthese scheint somit unabhängig von der $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentration zu sein, was insofern bemerkenswert ist, als die Konzentrationen von $25(\text{OH})\text{D}_3$ im ng/ml Bereich liegt und somit die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen (pg/ml) um den Faktor Tausend übersteigt (Horst *et al.*, 2003; Ritter *et al.*, 2006).

Unterstützt wird die Annahme einer sehr genauen Regulation des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Spiegels durch die trotz Supplementation unveränderten Ca-Konzentrationen im Blut. Insgesamt

könnten diese Beobachtungen zu der Schlussfolgerung führen, dass die gewählten Dosierungen (scheinbar) keine Effekte auf den Ca-Haushalt bzw. dessen Regulation hatten. Es muss jedoch bemerkt werden, dass die Ca-Konzentrationen im Blut der Kühe, die mit 1.0 mg 25(OH)D₃ (Experiment 1 und 2) supplementiert worden waren, zwar zum Zeitpunkt der Geburt am stärksten abfielen, im Gegensatz dazu der Anstieg von 1,25(OH)₂D₃ 48 bzw. 24 h *p.p.* in dieser Gruppe jedoch am stärksten ausfiel.

5.2.4 Calcium, Magnesium, Phosphat

5.2.4.1 Experiment 1

Zu Beginn des Versuches lagen die Ca_{tot}-Werte von Versuchs- und Kontrolltieren im Mittel bei 2.25 mmol/l und somit unterhalb des physiologischen Referenzbereiches (Hartmann und Mayer, 1994; Kraft *et al.*, 1999; Radostitis, 2000; Hofmann, 2005). Die eingesetzten Dosierungen von 25(OH)D₃ bewirkten wie in Studien von Taylor *et al.* (2008) keine signifikanten Unterschiede der Ca-Konzentration im Blut (siehe Abb. 15) (Taylor *et al.*, 2008). Im Gegensatz dazu konnte in Studien von Rivera *et al.* (2005) bei Fleischrindern mit täglichen oralen Gaben von 10 mg, 100 mg bzw. 1000 mg 25(OH)D₃ eine Erhöhung der Ca-Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt werden (Rivera *et al.*, 2005). Diese Dosierungen lagen jedoch deutlich über denen, die in dieser Arbeit eingesetzt wurden.

In den eigenen Versuchen lagen nahezu alle Ca_{tot}-Mittelwerte während des gesamten Versuchszeitraumes, unabhängig von der Dosierung, unterhalb des physiologischen Referenzbereiches. Bei der Abkalbung war bei allen Gruppen ein starker Abfall der Ca-Konzentrationen auf einen Wert von 1.69 - 1.79 mmol/l, 24 h *p.p.* (ibT) bzw. 1.58 - 1.75 mmol/l (ebT) zu beobachten. 24 h *p.p.* wurde bei allen Tieren das Minimum mit durchschnittlich 1.74 mmol/l (ibT) bzw. 1.67 mmol/l (ebT) erreicht, bevor die Konzentrationen wieder anstiegen. Erst 24 h *p.p.* schien der Organismus der Kühe wieder in der Lage zu sein, ausreichend Calcium bereit zu stellen. Sieben Tage *post partum* wurden Maximalwerte von 2.26 - 2.33 mmol/l (ibT) bzw. 2.25 - 2.30 mmol/l (ebT) erreicht. Trotz frühzeitiger Stimulierung der Ca-Homöostase konnte *peripartal* scheinbar keine signifikante Ca-Mobilisierung bewirkt werden.

Die statistischen Auswertungen nach MANN-WITHNEY, nach WELCH und WILCOXON ergaben nur geringfügig signifikante Unterschiede am 1., 10. und 22. Tag der Supplementation, sowie am 3. Tag *post partum* zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe. An den übrigen Versuchszeitpunkten konnten keine Unterschiede der Ca_{tot}-Werte festgestellt werden. Die zum Teil erheblichen Abweichungen in Varianz, Spannweite und Standardabweichung, vor allem bei der 1.0 mg-Gruppe, kamen wahrscheinlich dadurch zustande, weil es innerhalb dieser Gruppe Kühe gab, die schon

nach wenigen Supplementationstagen abgekalbt hatten. Dadurch verschoben sich die entsprechenden Parameter automatisch (siehe Tab. 14).

Um zu zeigen, dass es sehr wohl individuelle Unterschiede in diesen Studien gab, sind in den Abb. 16 bis Abb. 17 und Abb. 33 bis Abb. 34 die besten und schlechtesten Kühe jeder einzelnen Gruppe gegenübergestellt worden. Dabei ist deutlich zu erkennen, dass es Kühe gab, bei denen eine Wirkung auf die Blutcalciumkonzentration ausgeübt wurde. Die möglichen Gründe für diese Wirkung bleiben jedoch unklar.

Betrachtet man die Ergebnisse der Gruppen ohne die aufgrund von Hypocalcämie-behandelten Tiere, so ist bei der 2.0 mg-Gruppe insgesamt der *postpartale* Abfall der Ca-Konzentration deutlich schwächer, als das bei den restlichen Gruppen der Fall ist (Abb. 9). Eine mögliche Ursache könnte, wie von Goff *et al.* (1995) beschrieben, in der individuellen Reaktion der Gewebe für supplementiertes 25(OH)D₃ sein und in der abnehmenden *vitamin D-receptor*-Anzahl (VDR) mit zunehmendem Alter (Goff *et al.*, 1995) (Vgl. 2.3). Das konnte jedoch durch einen Vergleich der Laktationszahlen und der Supplementationsdauer in dieser Studie nicht bestätigt werden. In der 2.0 mg-Gruppe ergab sich innerhalb der 6 hypocalcämischen Tiere ein Laktationsmittelwert von 2.33 und eine durchschnittliche Supplementationsdauer von 25.67 Tagen. Innerhalb der 6 normocalcämischen Tiere ergab sich ein Laktationsmittelwert von 2.83 und eine durchschnittliche Supplementationsdauer von 25.33 Tagen. Somit kann in dieser Studie analog zur Studie von Taylor *et al.* (2008) eine altersbedingte Abnahme der VDR-Rezeptoren nicht ausschlaggebend gewesen sein (Taylor *et al.*, 2008).

Unabhängig von den statistischen Prüfungen ergaben sich weitere Zusammenhänge, die erwähnt werden müssen. Mit steigender Dosierung von 25(OH)D₃ ergab sich ein stärkerer Abfall der Ca-Konzentration *post partum*, wenn man die Hypocalcämie-behandelten Tiere in die Beurteilung mit einbezieht. Je höher die Dosis, desto niedriger war die Ca-Konzentration 24 h *p.p.* und die Standardabweichung dieses Parameters nahm zu. Diese Beobachtung geht konform mit den Studien von Taylor *et al.* (2008) und Ritter *et al.* (2006) und könnte so interpretiert werden, dass trotz unveränderter Ca-Konzentrationen im Blut u.U. eine Gegenregulation aufgrund der hohen 25(OH)D₃ – Dosierung induziert wurde, die dann eine rasche Induktion der 1,25(OH)₂D₃ – Synthese und der physiologischen Wirkungen von 1,25(OH)₂D₃ verhinderte (Ritter *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2008). Das würde auch erklären, warum im Experiment 1 und 2 jeweils in der 1.0 mg-Gruppe 2 Kühe gegen Hypocalcämie behandelt werden mussten, obwohl innerhalb dieser Gruppen der stärkste Anstieg der 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen *post partum* zu beobachten war.

Im Bezug auf den Magnesium- und Phosphathaushalt der Tiere ergaben sich offensichtlich keine negativen Effekte. Die Konzentrationen dieser Mineralstoffe lagen während des gesamten Versuchszeitraumes innerhalb des physiologischen Referenzbereiches.

5.2.4.2 Experiment 2

Ante partum beliefen sich die Ca_{tot} -Werte von Versuchs- und Kontrolltieren im Mittel bei 2.40 mmol/l und waren somit nahezu vollständig innerhalb des physiologischen Referenzbereiches (Hartmann und Mayer, 1994; Kraft *et al.*, 1999; Radostitis, 2000; Hofmann, 2005). Die eingesetzten Dosierungen von 25(OH) D_3 sowie eine verkürzte Supplementationsdauer von maximal 7 Tagen bewirkten keine signifikanten Unterschiede der Ca-Konzentration im Blut (siehe Abb. 15). Unmittelbar vor der Abkalbung bis etwa 60 h *p.p.* lagen nahezu alle Ca_{tot} -Werte, unabhängig von der Dosierung, unterhalb des physiologischen Referenzbereiches. Zum Zeitpunkt der Geburt war bei allen Gruppen ein Abfall der Ca-Konzentrationen auf einen Wert von 1.79 - 1.92 mmol/l (ebT) bzw. 1.77 - 1.88 mmol/l (ibT) zu beobachten. 24 h *p.p.* wurde bei allen Tieren das Minimum von durchschnittlich 1.86 mmol/l (ebT) bzw. 1.83 mmol/l (ibT) erreicht, bevor die Konzentrationen wieder anstiegen. Trotz verkürzter Supplementationsdauer schien der Organismus der Kühe analog zu Experiment 1 erst 24 h *p.p.* in der Lage zu sein, ausreichend Calcium bereit zu stellen. Sieben Tage *post partum* wurden Maximalwerte von 2.40 - 2.58 mmol/l (ebT) bzw. 2.34 - 2.51 mmol/l (ibT) erreicht. Damit lagen die Ca-Konzentrationen aller Gruppen im Experiment 2 höher als im Experiment 1 [1. Tag der Suppl.: Exp. 1 = 2.25 mmol/l, Exp. 2 = 2.40 mmol/l; 24 h *p.p.*: Exp. 1 = 1.74 mmol/l (ebT) bzw. 1.67 mmol/l (ibT), Exp. 2 = 1.86 mmol/l (ebT) bzw. 1.83 mmol/l (ibT); 7 d *p.p.*: Exp. 1 = 2.30 mmol/l (ebT) bzw. 2.28 mmol/l (ibT), Exp. 2 = 2.49 mmol/l (ebT) bzw. 2.43 mmol/l (ibT)] (siehe Abb. 9 und Abb. 15).

Die statistischen Auswertungen nach MANN-WITHNEY, nach WELCH und WILCOXON ergaben nur geringfügig signifikante Unterschiede am 1. Tag der Supplementationsdauer, sowie am 2.- und 3. Tag *post partum* zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe, wobei an allen Zeitpunkten die Kontrollgruppe deutlich höhere Ca_{tot} -Werte aufwies als die Versuchsgruppen. An den übrigen Versuchszeitpunkten konnten keine Unterschiede der Ca_{tot} -Werte zwischen Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen festgestellt werden. Weitere Zusammenhänge, die in Experiment 2 beobachtet wurden, sind der mit steigender 25(OH) D_3 – Dosierung zunehmende Abfall der Ca-Konzentration 24 h *p.p.*, wenn man die Hypocalcämie-behandelten Tiere in die Beurteilung nicht mit einbezieht. Trotz verringerter Supplementationsdauer wurden sehr wahrscheinlich bereits *ante partum* Gegenregulationsmechanismen (Abb. 15, Schwankungen der Ca-Konzentrationen) aufgrund der hohen 25(OH) D_3 – Dosierung ausgelöst, die dann eine rasche Induktion der 1,25(OH) $_2D_3$ – Synthese und der physiologischen Wirkungen von 1,25(OH) $_2D_3$ verhinderten. Im Diagramm ohne Hypocalcämie-behandelter Tiere ist dabei mit sinkender Dosierung von 25(OH) D_3 eine steigende Ca-Mobilisierung 12 h *p.p.* zu verzeichnen. Diese zwei Aspekte bestätigen die von Horst *et al.* (2003) beschriebene fehlende Korrelation zwischen Ca und 1,25(OH) $_2D_3$ bei Versuchen, in denen Rinder mit 25(OH) D_3 supplementiert worden waren (Horst *et al.*, 2003).

Im Bezug auf den Magnesium- und Phosphathaushalt der Tiere ergaben sich offensichtlich keine negativen Effekte. Die Konzentrationen dieser Mineralstoffe lagen während des gesamten Versuchszeitraumes innerhalb des physiologischen Referenzbereiches.

5.3 Schlussfolgerungen

Die gewählten Dosierungen von $25(\text{OH})\text{D}_3$ verursachten einen dosisabhängigen Anstieg dieses Metaboliten im Blut während der Supplementationsdauer. Dabei zeigten Kühe mit einer Supplementationsdauer von mindestens 21 Tagen höhere Konzentrationen als Kühe, die nur maximal 7 Tage supplementiert worden waren. Dieser Anstieg der $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Konzentrationen im Blut bewirkte jedoch keine Veränderung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentration vor der Abkalbung und damit auch nicht der Ca-Konzentration im Blut. Die nicht signifikanten Veränderungen der Ca- und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen im Blut, unmittelbar vor und nach der Abkalbung erlauben im Zusammenhang mit den klinischen Beobachtungen (Notwendigkeit der Ca-Infusion) die Schlussfolgerung, dass keine positive Beeinflussung der Regulationsfähigkeit des Ca-Haushalts durch die $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Dosierung erfolgt ist. Es ist nicht klar, ob der nicht vorhandene Effekt auf die Dosierung oder die Dosierungsdauer zurückzuführen ist.

5.4 Empfehlungen

Um positive Effekte beim Einsatz von Vitamin D-Präparaten auf den Ca-Haushalt auslösen zu können, sind die üblichen allgemeinen Empfehlungen wie eine strenge Konditionierung der Tiere während der Trockenstehperiode und eine bedarfsgerechte Fütterung im übrigen Zeitraum uneingeschränkt zu beachten. Im Hinblick auf die erhaltenen Versuchsergebnisse lassen sich folgende Aussagen und Empfehlungen ableiten:

- a. Die gewählten Dosierungen von $25(\text{OH})\text{D}_3$ induzierten keine Gegenregulation in dem Sinne, dass die Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unterdrückt wurde, wie es in entsprechenden Versuchen bisher der Fall war.
- b. Die Dosierungsdauer sollte einen Zeitraum von 7 Tagen nicht überschreiten. Da in beiden Experimenten bei der 1.0 mg- $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Gruppe die höchsten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentrationen im Blut erzielt wurden, könnte diese Dosierung für weitere Untersuchungen geeignet sein.
- c. Es ist nicht klar, warum bei einem erhöhten $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Angebot durch die Supplementierung nicht vermehrt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aufgrund einer Hypocalcämie gebildet wurde. Da die $25(\text{OH})\text{D}_3$ - 1α -Hydroxylase durch PTH direkt beeinflusst wird, muss zukünftig bei entsprechenden Versuchen eine Bestimmung der PTH Konzentration einbezogen werden. Diese Notwendigkeit ist insbesondere durch die Wirkung einer lokalen Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit möglichen negativem Feedback auf die PTH-

Sekretion gegeben. Die bekannte Gegenregulation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die $25(\text{OH})\text{D}_3$ - 1α -Hydroxylase als wesentlicher Faktor erscheint unwahrscheinlich, weil sich die Werte von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ *p.p.* zwischen den Gruppen nicht stark unterscheiden.

- d. Um die Auswirkungen einer $25(\text{OH})\text{D}_3$ – Supplementierung sowie der möglichen PTH-Gegenregulation auf die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentrationen im Blut besser verstehen zu können, sollte die Konzentration von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in täglichem Abstand analysiert werden (siehe Unterschiede von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ *a.p.* in Experiment 1 und 2).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Der Effekt einer 25(OH)D₃ – Supplementierung auf die Calciummobilisierungsfähigkeit bei Milchkühen zum Zeitpunkt der Geburt

Infolge des nationalen und internationalen Wettbewerbs in der Milchproduktion ergeben sich durch die erzielten Leistungssteigerungen der Milchkühe häufig negative Konsequenzen für die Gesundheit. Nach wie vor gehört die Gebärparese in der Milchwirtschaft zu den häufigsten und verlustreichsten *peripartalen* Stoffwechselerkrankungen des Rindes. Dabei sind vor allem Hochleistungstiere mit dem Einsetzen der Laktation nicht mehr in der Lage, den plötzlichen und hohen Ca-Bedarf mit den regulären homöostatischen Regulationsmechanismen des Körpers bereit zu stellen. Aufgrund der großen ökonomischen Bedeutung der Gebärparese sind bisher zahlreiche Untersuchungen durchgeführt worden, um eine geeignete Prophylaxe zur Vermeidung dieser Erkrankung zu entwickeln.

Eine Option ist die Supplementation mit Vitamin D oder Metaboliten von Vitamin D, die für die Regulation des Calciumstoffwechsels von entscheidender Bedeutung sind. Eine Wirkung kann jedoch nur erreicht werden, wenn durch die richtige Dosierung und Supplementationsdauer Gegenregulationsmechanismen vermieden werden. In der vorliegenden Studie war deshalb die Zielstellung, eine geeignete Dosierung nach ausreichender Supplementationsdauer mit 25(OH)D₃ zu definieren.

Im Experiment 1 wurde die Supplementation von 0.5-, 1.0- oder 2.0 mg 25(OH)D₃ pro Tag 3 Wochen vor dem errechneten Geburtstermin aufgenommen (bis zur Abkalbung fortgesetzt). Im Experiment 2 wurde die Supplementation von 1.0-, 2.0- oder 4.0 mg 25(OH)D₃ pro Tag 1 Woche vor dem errechneten Geburtstermin aufgenommen und maximal 7 Tage fortgesetzt. Die Versuche führten zu folgenden Versuchsergebnissen:

- a) Die Konzentration von 25(OH)D₃ im Blut stieg entsprechend der Dosierung und mit der Supplementationsdauer an.
- b) Die Konzentration von 1,25(OH)₂D₃ im Blut veränderte sich vor der Abkalbung nicht.
- c) Die Konzentrationen von Ca, Mg und P im Blut wurden vor der Abkalbung durch die Supplementation nicht beeinflusst.
- d) Die Konzentrationen von Ca und 1,25(OH)₂D₃ wiesen dosisabhängige [25(OH)D₃], jedoch nicht signifikante Veränderungen im *peripartalen* Zeitraum auf.
- e) Die Notwendigkeit einer Behandlung mit einer Ca-Infusion nahm im Experiment 1 mit der Erhöhung der Dosierung zu (0.5-, 1.0- und 2.0 mg). Diese Beobachtungen lassen die Vermutung zu, dass trotz unveränderter Ca- und 1,25(OH)₂D₃ – Konzentrationen

Zusammenfassung

im Blut vor der Abkalbung eine Prädisposition induziert wurde, die eine schnelle Regulation des Ca-Haushaltes während der Geburt beeinträchtigte. Hauptursache für diese Beeinträchtigung ist vermutlich die lange Supplementationsdauer.

- f) Im Experiment 2 (1.0-, 2.0- und 4.0 mg, max. 7 Tage) wurde daher versucht, die mögliche Induzierung von Gegenregulationsmechanismen zu vermeiden. Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass eine reduzierte Supplementationsdauer die Regulationsmechanismen der Ca-Homöostase *peripartal* verbessert. Trotzdem lässt sich aufgrund der Tierzahl beider Gruppen (à 12) bisher keine Aussage über eine erfolgreiche Gebärparese-Prophylaxe treffen.
- g) Es ist unklar, warum in beiden Versuchen der *postpartale* Anstieg von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ trotz des erhöhten Angebots von $25(\text{OH})\text{D}_3$ in allen Gruppen praktisch gleich ausfiel.

Die erhaltenen Befunde erlauben die Schlussfolgerung, dass die Applikation von 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ pro Tag und Kuh bei einer Supplementationsdauer von 1 Woche den Anstieg der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – Konzentration *p.p.* nicht negativ im Sinne einer Gegenregulation beeinflusst, wie es bei entsprechenden Versuchen bisher immer beobachtet wurde. Damit eröffnet sich eine Perspektive für weitere Untersuchungen mit $25(\text{OH})\text{D}_3$, da die bisherige Limitierung des Einsatzes dieser Substanz zur Prophylaxe der Gebärparese nicht mehr gegeben ist: Die ausbleibende Bildung des aktiven Metaboliten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. So wäre z. B. zu klären, warum trotz erhöhter Konzentration von $25(\text{OH})\text{D}_3$ im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht vermehrt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet wird. Die Beantwortung dieser Frage würde dann u. U. Hinweise geben, wie und ob $25(\text{OH})\text{D}_3$ zur Gebärpareseprophylaxe eingesetzt werden kann.

7. SUMMARY

Effect of oral supplementation with 25(OH)D₃ on calcium mobilization in cows

As a result of the national and international competition in milk production often negative consequences for the health of dairy cows have been observed. *Parturient paresis* belongs in the milk economy to the most frequent *peripartal* disease. At begin of lactation, dairy cows are not able to cover the sudden and high requirement of calcium with physiological homeostatic mechanisms of the body. The negative economic consequences of *parturient paresis* led to many attempts to develop a successful prophylaxis of this disease.

One option is the supplementation with vitamin D or its metabolites, which are decisive for the regulation of Ca-metabolism. However, vitamin D or its metabolites can only be used, if a counter-regulation can be avoided by application of the right dose and the right length of time. It was therefore the intention of the present study to optimize the dose and the duration of supplementation with 25(OH)D₃.

In experiment 1 cows were supplemented with 0.5-, 1.0- or 2.0 mg 25(OH)D₃ per day 3 weeks before expected time of parturition (until parturition). In experiment 2 cows were supplemented with 1.0-, 2.0- or 4.0 mg 25(OH)D₃ per day 1 week before expected time of parturition for a maximum of 7 days. The following results were obtained:

- a) The concentration of 25(OH)D₃ in the blood rose according to the dose and time of supplementation.
- b) The concentration of 1,25(OH)₂D₃ in the blood did not change before parturition.
- c) The concentrations of Ca, Mg and P in the blood were not influenced by the supplementation before parturition.
- d) The concentrations of Ca and 1,25(OH)₂D₃ showed dose-dependent [25(OH)D₃], but not significant changes in the *peripartal* period.
- e) Clinical treatment with Ca-infusions in experiment 1 increased with the dose of 25(OH)D₃ (0.5-, 1.0- and 2.0 mg). These observations allow the preliminary conclusion, that in spite of unchanged Ca- and 1,25(OH)₂D₃ – concentrations in the blood before parturition a predisposition was induced, which impairs a rapid regulation of the Ca-homeostasis during time of parturition. It is suggested, that the long time of supplementation is the major cause of this impairment.
- f) The experimental design of experiment 2 (1.0-, 2.0- and 4.0 mg for 7 days) tried to avoid this possible complication. The obtained results support the conclusion, that the reduced length of supplementation improved the regulation of Ca-homeostasis

Summary

around parturition. However, the number of cows in each group (à 12) does not allow statements about a successful prophylaxis of milk fever.

- g) It was not clear, why the *postpartal* increase of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in both experiments was almost the same in all groups, in spite of increasing concentrations of $25(\text{OH})\text{D}_3$.

These findings permit the conclusion, that the application of 1.0 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$ per day and cow for 1 week does not change the increase of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ production *p.p.* negatively. The induction of a counter regulation did obviously not occur as it has been always observed in previous studies. Hence, a perspective for further studies with $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ is given, because hitherto the limitation of the $25(\text{OH})\text{D}_3$ application for prevention of parturient paresis was not seen: The missing production of the active metabolite $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. However, uncertainties are remaining, because it is surprising that the high concentrations of $25(\text{OH})\text{D}_3$ during supplementation did not induce increasing $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – concentrations. A satisfying explanation of this observation could possibly give hint, how and whether $25(\text{OH})\text{D}_3$ can be used for the prophylaxis of parturient paresis.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- ALLEN, W. M. und SANSOM, B. F. (1985)
Milk fever and calcium metabolism.
J Vet Pharmacol Ther **8**(1): S. 19-29
- ARMBRECHT, H. J.; BOLTZ, M. A. und HODAM, T. L. (2003)
PTH increases renal 25(OH)D₃-1alpha -hydroxylase (CYP1alpha) mRNA but not renal 1,25(OH)₂D₃ production in adult rats.
Am J Physiol Renal Physiol **284**(5): S. F1032-6
- BARLET, J. P. (1980)
Inhibition by calcitonin of hypercalcaemia induced by 1,25-dihydroxycholecalciferol.
J Endocrinol **85**(1): S. 63-7
- BECKER, K. (1974)
Untersuchungen zum Gehalt an Magnesium, Kalzium und Phosphor in Plazenten verschiedener Säuger.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **81**: S. 263-264
- BLOCK, E. (1984)
Manipulating dietary anions and cations for parturient dairy cows to reduce incidence of milk fever.
J Dairy Sci **67**(12): S. 2939-48
- BLOCK, E. (1994)
Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows.
J Dairy Sci **77**(5): S. 1437-50
- BLUM, J. W.; TRECHSEL, U.; BORN, W.; TOBLER, P. H.; TAYLOR, C. M.; BINSWANGER, U. und FISCHER, J. A. (1983)
Rapidly of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D responses to hypo- and hypercalcemia in steers.
Endocrinology **113**(2): S. 523-6
- BRADE, W. (2005)
Nutzungsdauer und Abgangsursachen von Holsteinkühen: Konsequenz für die Züchtung?
Der praktische Tierarzt **86**(9): S. 658-667
- BREVES, G.; PRAECHTER, C. und SCHRÖDER, B. (1999)
Calcium metabolism in ruminants - Physiological aspects and effects of anion rich diets.
Proc Soc Nutr Physiol **8**: S. 27-35
- BRINGE, A. N.; JORGENSEN, N. A. und DELUCA, H. F. (1971)
Efficacy of 25-hydroxycholecalciferol on prevention of parturient paresis in dairy cows.
J. Dairy Sci **54**(5): S. 792

- BRINGHURST, F. R. und KRONENBERG, H. M. (1998)
Hormones and disorders of mineral metabolism
Philadelphia: Saunders
- BRONNER, F.; PANSU, D. und STEIN, W. D. (1986)
An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine.
Am J Physiol **250**(5 Pt 1): S. G561-9
- BROWN, E. M. (1991)
Extracellular Ca²⁺-sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca²⁺ and other ions as extracellular (first) messengers.
Physiol Rev **71**(2): S. 371-411
- BROWN, E. M.; GAMBA, G.; RICCARDI, D.; LOMBARDI, M.; BUTTERS, R.; KIFOR, O.; SUN, A.; HEDIGER, M. A.; LYTTON, J. und HEBERT, S. C. (1993)
Cloning and characterization of an extracellular Ca⁽²⁺⁾-sensing receptor from bovine parathyroid.
Nature **366**(6455): S. 575-80
- CANALIS, E.; CENTRELLA, M.; BURCH, W. und MCCARTHY, T. L. (1989)
Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures.
J Clin Invest **83**(1): S. 60-5
- CHENG, J. B.; MOTOLA, D. L.; MANGELSDORF, D. J. und RUSSELL, D. W. (2003)
De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase.
J Biol Chem **278**(39): S. 38084-93
- CHRISTAKOS, S.; GABRIELIDES, C. und RHOTEN, W. B. (1989)
Vitamin D-dependent calcium binding proteins: chemistry, distribution, functional considerations, and molecular biology.
Endocr Rev **10**(1): S. 3-26
- COX, V. S.; MCGRATH, C. J. und JORGENSEN, S. E. (1982)
The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome.
Am J Vet Res **43**(1): S. 26-31
- COX, V. S. (1982a)
Pathogenesis of the downer cow syndrome.
Vet Rec **111**(4): S. 76-9
- CURTIS, C. R.; ERB, H. N.; SNIFFEN, C. J.; SMITH, R. D.; POWERS, P. A.; SMITH, M. C.; WHITE, M. E.; HILLMAN, R. B. und PEARSON, E. J. (1983)
Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows.
J Am Vet Med Assoc **183**(5): S. 559-61
- CURTIS, C. R.; ERB, H. N.; SNIFFEN, C. J. und SMITH, R. D. (1984)
Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management.
J Dairy Sci **67**(4): S. 817-25

- CURTIS, C. R.; ERB, H. N.; SNIFFEN, C. J.; SMITH, R. D. und KRONFELD, D. S. (1985)
Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in *Holstein* cows.
J Dairy Sci **68**(9): S. 2347-60
- DELUCA, H. F. (1981)
Recent advances in the metabolism of vitamin D.
Annu Rev Physiol **43**: S. 199-209
- DIRKSEN, G.; PLANK, P.; HÄNICHEN, T.; DÄMMRICH, K. und SPIESS, A. (1972)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. V. Experimentelle Untersuchung an Kaninchen mit selektiver Verfütterung von Knautgras (*Dactylis glomerata*), Goldhafer (*Trisetum flavescens*) und einem Grasgemisch.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **79**: S. 77-79
- DIRKSEN, G.; STERR, K. und HERRMANN, W. (2003)
Enzootische Kalzinose beim Schaf nach Verzehr von Goldhafer.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **110**(12): S. 475-483
- ENDER, F.; DISHINGTON, I. W. und HELGEBOSTAD, A. (1971)
Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis.
Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd **28**(5): S. 233-56
- ENGSTROM, G. W.; REINHARDT, T. A. und HORST, R. L. (1986)
25-Hydroxyvitamin D₃-23-hydroxylase, a renal enzyme in several animal species.
Arch Biochem Biophys **250**(1): S. 86-93
- ENGSTROM, G. W.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. und REINHARDT, T. A. (1987)
Regulation of calf renal 25-hydroxyvitamin D-hydroxylase activities by calcium-regulating hormones.
J Dairy Sci **70**(11): S. 2266-71
- ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE, G. G. F. (1978)
Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere - Empfehlungen zur Mineralstoffversorgung.
Bd. 1: S. 13-21
- FLEET, J. C.; BRUNS, M. E.; HOCK, J. M. und WOOD, R. J. (1994)
Growth hormone and parathyroid hormone stimulate intestinal calcium absorption in aged female rats.
Endocrinology **134**(4): S. 1755-60
- FLEET, J. C. (2006)
Molecular regulation of calcium and bone metabolism through the vitamin D receptor.
J Musculoskelet Neuronal Interact **6**(4): S. 336-7
- FRANK, F. (1977)
Parturient paresis prophylaxis with 25-hydroxycholecalciferol.: Walter de Gruyter Berlin, Asilomar California
- FREEDMAN, L. P. und LEMON, B. D. (1997)
Molecular Mechanisms of Gene Control by the Vitamin D₃ Receptor.
Ernst Schering Research Foundation **29**: S. 7-26

- FREERKING, H. (1999)
Abgangsursachen von ganzjährig milchleistungsgeprüften Kühen im Bereich der Landwirtschaftskammer Hannover 1958 - 1997.
Der praktische Tierarzt **80**(7): S. 607-612
- FUDGE, N. J. und KOVACS, C. S. (2004)
Physiological studies in heterozygous calcium sensing receptor (CaSR) gene-ablated mice confirm that the CaSR regulates calcitonin release in vivo.
BMC Physiol **4**: S. 5
- FÜRLI, M.; JÄKEL, L.; BAUERFELD, J. und GROPPPEL, B. (1996)
Gebärpareseprophylaxe mit "Anionenrationen".
Collegium veterinarium **XXVI**: S. 31-34
- GAST, D. R.; HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. und DELUCA, H. F. (1979)
Potential use of 1,25-dihydroxycholecalciferol for prevention of parturient paresis.
J Dairy Sci **62**(6): S. 1009-13
- GAYNOR, P. J.; MUELLER, F. J.; MILLER, J. K.; RAMSEY, N.; GOFF, J. P. und HORST, R. L. (1989)
Parturient hypocalcemia in *jersey* cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios.
J Dairy Sci **72**(10): S. 2525-31
- GELFERT, C. C.; ALPERS, I.; DALLMEYER, M.; DECKER, M.; HUTING, A.; LESCH, S.; BAUMGARTNER, W. und STAUFENBIEL, R. (2007)
Factors affecting the success rate of treatment of recumbent dairy cows suffering from hypocalcaemia.
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med **54**(4): S. 191-8
- GOFF, J. P.; LITLEDIKE, E. T. und HORST, R. L. (1986)
Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: prevention of hypocalcemic parturient paresis.
J Dairy Sci **69**(9): S. 2278-89
- GOFF, J. P.; HORST, R. L.; BEITZ, D. C. und LITLEDIKE, E. T. (1988)
Use of 24-F-1,25-dihydroxyvitamin D₃ to prevent parturient paresis in dairy cows.
J Dairy Sci **71**(5): S. 1211-9
- GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E., JR. und HORST, R. L. (1989a)
Periparturient hypocalcemia in cows: prevention using intramuscular parathyroid hormone.
J Dairy Sci **72**(5): S. 1182-7
- GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. und HORST, R. L. (1989b)
Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25-dihydroxyvitamin D.
Endocrinology **125**(1): S. 49-53
- GOFF, J. P.; HORST, R. L.; MUELLER, F. J.; MILLER, J. K.; KIESS, G. A. und DOWLEN, H. H. (1991a)
Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever.
J Dairy Sci **74**(11): S. 3863-71

- GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. und HORST, R. L. (1991b)
Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows.
J Dairy Sci **74**(11): S. 4022-32
- GOFF, J. P. und HORST, R. L. (1994)
Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration.
J Dairy Sci **77**(5): S. 1451-6
- GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. und HORST, R. L. (1995)
Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows.
J Dairy Sci **78**(11): S. 2388-94
- GOFF, J. P. und HORST, R. L. (1997a)
Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum ratios on milk fever in dairy cows.
J Dairy Sci **80**(1): S. 176-86
- GOFF, J. P. und HORST, R. L. (1997b)
Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.
J Dairy Sci **80**(7): S. 1260-8
- GOFF, J. P. (2000)
Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **16**(2): S. 319-37, vii
- GOFF, J. P. (2006a)
Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health.
J Dairy Sci **89**(4): S. 1292-301
- GOFF, J. P. (2006b)
Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders.
Animal Feed Science and Technology **126**: S. 237-257
- GOFF, J. P. (2008)
The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows.
Vet J **176**(1): S. 50-7
- HALLORAN, B. P.; BARTHELL, E. N. und DELUCA, H. F. (1979)
Vitamin D metabolism during pregnancy and lactation in the rat.
Proc Natl Acad Sci U S A **76**(11): S. 5549-53
- HARKNESS, L. und CROMER, B. (2005)
Low levels of 25-hydroxy vitamin D are associated with elevated parathyroid hormone in healthy adolescent females.
Osteoporos Int **16**(1): S. 109-13

- HARTMANN, H. und MAYER, H. (1994)
Physiologische Richtwerte einiger Blutinhaltsstoffe und der Blutzellen bei Haussäugetieren (Angang).
Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag
- HIBBS, J. W. und POUNDEN, W. D. (1955)
Studies on Milk Fever in Dairy Cows .4. Prevention by Short-Time, Prepartum Feeding of Massive Doses of Vitamin-D.
Journal of Dairy Science **38**(1): S. 65-72
- HIBBS, J. W. und CONRAD, H. R. (1976)
Milk fever in dairy cows. VII. Effect of continuous vitamin D feeding on incidence of milk fever.
J Dairy Sci **59**(11): S. 1944-6
- HO, C.; CONNER, D. A.; POLLAK, M. R.; LADD, D. J.; KIFOR, O.; WARREN, H. B.; BROWN, E. M.; SEIDMAN, J. G. und SEIDMAN, C. E. (1995)
A mouse model of human familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism.
Nat Genet **11**(4): S. 389-94
- HOCK, J. M. und FONSECA, J. (1990)
Anabolic effect of human synthetic parathyroid hormone-(1-34) depends on growth hormone.
Endocrinology **127**(4): S. 1804-10
- HOENDEROP, J. G.; VENNEKENS, R.; MULLER, D.; PRENEN, J.; DROOGMANS, G.; BINDELS, R. J. und NILIUS, B. (2001)
Function and expression of the epithelial Ca⁽²⁺⁾ channel family: comparison of mammalian ECaC1 and 2.
J Physiol **537**(Pt 3): S. 747-61
- HOENDEROP, J. G.; NILIUS, B. und BINDELS, R. J. (2005)
Calcium absorption across epithelia.
Physiol Rev **85**(1): S. 373-422
- HOFFSIS, G. (1979)
The use of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the prevention of parturient hypocalcemia in dairy cows.
Bov Pract **13**: S. 88-95
- HOFMANN, W. (2005)
Rinderkrankheiten - Innere und chirurgische Erkrankungen
Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag
- HOLICK, M. F. (2007)
Vitamin D deficiency.
N Engl J Med **357**(3): S. 266-81
- HORST, R. L.; EISMAN, J. A.; JORGENSEN, N. A. und DELUCA, H. F. (1977)
Adequate response of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D to parturition in paretic (milk fever) dairy cows.
Science **196**(4290): S. 662-3

- HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. und DELUCA, H. F. (1978)
Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in paretic dairy cows.
Am J Physiol **235**(6): S. E634-7
- HORST, R. L. und LITLEDIKE, E. T. (1979)
Assay for vitamin D₂ and vitamin D₃ in plasma of dairy cows: changes after massive dosing of
vitamin D₃.
J Dairy Sci **62**(11): S. 1746-51
- HORST, R. L.; SHEPARD, R. M.; JORGENSEN, N. A. und DELUCA, H. F. (1979a)
The determination of the vitamin D metabolites on a single plasma sample: changes during
parturition in dairy cows.
Arch Biochem Biophys **192**(2): S. 512-23
- HORST, R. L. und REINHARDT, T. A. (1983)
Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow.
J Dairy Sci **66**(4): S. 661-78
- HORST, R. L. (1986)
Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow.
J Dairy Sci **69**(2): S. 604-16
- HORST, R. L.; GOFF, J. P. und REINHARDT, T. A. (1990)
Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor.
Endocrinology **126**(2): S. 1053-7
- HORST, R. L.; GOFF, J. P. und REINHARDT, T. A. (1994)
Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow.
J Dairy Sci **77**(7): S. 1936-51
- HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. und BUXTON, D. R. (1997)
Strategies for preventing milk fever in dairy cattle.
J Dairy Sci **80**(7): S. 1269-80
- HORST, R. L.; GOFF, J. P. und REINHARDT, T. A. (2003)
Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient
paresis.
Acta Vet Scand Suppl **97**: S. 35-50
- HORST, R. L.; GOFF, J. P. und REINHARDT, T. A. (2005)
Adapting to the transition between gestation and lactation: differences between rat, human and
dairy cow.
J Mammary Gland Biol Neoplasia **10**(2): S. 141-56
- HOUE, H.; OSTERGAARD, S.; THILSING-HANSEN, T.; JORGENSEN, R. J.; LARSEN, T.;
SORENSEN, J. T.; AGGER, J. F. und BLOM, J. Y. (2001)
Milk fever and subclinical hypocalcaemia - an evaluation of parameters on incidence risk,
diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease
control.
Acta Veterinaria Scandinavia **42**(1): S. 1-29

- HOVE, K. und KRISTIANSEN, T. (1982)
Prevention of parturient hypocalcemia: effect of a single oral dose of 1,25-dihydroxyvitamin D₃.
J Dairy Sci **65**(10): S. 1934-40
- HOVE, K. und KRISTIANSEN, T. (1984)
Oral 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in prevention of milk fever.
Acta Vet Scand **25**(4): S. 510-25
- JÄKEL, L. (2002, 17.01.-19.01.)
Gebärpäreseprophylaxe mit veränderter Calol(R)-Anwendung.
In: 2. Leipziger Tierärztekongress,
Leipzig ISBN:3-00-008948-9
aus: Kongressband Internationaler Workshop, S. 302-303
- JORGENSEN, N. A. (1974)
Combating milk fever.
J Dairy Sci **57**(8): S. 933-44
- JORGENSEN, N. A.; HORST, R. L.; DELUCA, H. F. und OGILVIE, M. L. (1978)
25-hydroxycholecalciferol for prevention of "milk fever" in dairy cows.
Vet Rec **103**(7): S. 136-8
- JORGENSEN, R. J.; HANSEN, T.; JENSEN, M. L. und THILSING-HANSEN, T. (2001)
Effect of oral drenching with zinc oxide or synthetic zeolite A on total blood calcium in dairy cows.
J Dairy Sci **84**(3): S. 609-13
- JULIEN, W. E.; CONRAD, H. R.; HIBBS, J. W. und CRIST, W. L. (1977)
Milk fever in dairy cows. VIII. Effect of injected vitamin D₃ and calcium and phosphorus intake on incidence.
J Dairy Sci **60**(3): S. 431-6
- KAMPHUES, J. (1996)
Das DCAB-Konzept in der Gebärpärophylaxe.
Übersicht. Tierernährung **24**: S. 129-135
- KARGES, K.; BROOKS, J. C.; GILL, D. R.; BREAZILE, J. E.; OWENS, F. N. und MORGAN, J. B. (2001)
Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers.
J Anim Sci **79**(11): S. 2844-50
- KOSMOL, A. (2007)
Einfluss der oralen Supplementierung von 25(OH)D₃ auf die Calciummobilisierungsfähigkeit bei nicht laktierenden Kühen. Berlin: Mensch&Buch-Verlag. 1: 1-124
- KRAFT, W.; BOSTEDT, H. und HEINRITZI, K. (1999)
Skelettmuskulatur, Knochen, Kalzium-, Phosphor-, Magnesiumstoffwechsel.
Stuttgart, New York: Schattauer Verlag

- KUMAR, R.; COHEN, W. R.; SILVA, P. und EPSTEIN, F. H. (1979)
Elevated 1,25-dihydroxyvitamin D plasma levels in normal human pregnancy and lactation.
J Clin Invest **63**(2): S. 342-4
- KUROSAKI, N.; YAMATO, O.; MORI, F.; IMOTO, S. und MAEDE, Y. (2007)
Preventive effect of mildly altering dietary cation-anion difference on milk fever in dairy cows.
J Vet Med Sci **69**(2): S. 185-92
- LEHESTE, J. R.; MELSEN, F.; WELLNER, M.; JANSEN, P.; SCHLICHTING, U.; RENNER-MULLER, I.; ANDREASSEN, T. T.; WOLF, E.; BACHMANN, S.; NYKJAER, A. und WILLNOW, T. E. (2003)
Hypocalcemia and osteopathy in mice with kidney-specific megalin gene defect.
Faseb J **17**(2): S. 247-9
- LITLEDIKE, E. T.; YOUNG, J. W. und BEITZ, D. C. (1981)
Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex.
J Dairy Sci **64**(6): S. 1465-82
- LITLEDIKE, E. T. und HORST, R. L. (1982)
Vitamin D₃ toxicity in dairy cows.
J Dairy Sci **65**(5): S. 749-59
- MATHIEU, C. und ADORINI, L. (2002)
The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ analogs as immunomodulatory agents.
Trends Mol Med **8**(4): S. 174-9
- MAYER, G. P.; RAMBERG, C. F., JR.; KRONFELD, D. S.; BUCKLE, R. M.; SHERWOOD, L. M.; AURBACH, G. D. und POTTS, J. T., JR. (1969)
Plasma parathyroid hormone concentration in hypocalcemic parturient cows.
Am J Vet Res **30**(9): S. 1587-97
- MELLO, J. R. (2003)
Calcinosis-calcinogenic plants.
Toxicon **41**(1): S. 1-12
- NIJENHUIS, T.; HOENDEROP, J. G. und BINDELS, R. J. (2005)
TRPV5 and TRPV6 in Ca⁽²⁺⁾ (re)absorption: regulating Ca⁽²⁺⁾ entry at the gate.
Pflugers Arch **451**(1): S. 181-92
- OETZEL, G. R. (1988a)
Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **4**(2): S. 351-64
- OETZEL, G. R.; OLSON, J. D.; CURTIS, C. R. und FETTMAN, M. J. (1988b)
Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows.
J Dairy Sci **71**(12): S. 3302-9

- OETZEL, G. R. (2000)
Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **16**(2): S. 369-86, vii
- OLSON, W. G.; JORGENSEN, N. A.; BRINGE, A. N.; SCHULTZ, L. H. und DELUCA, H. F. (1973a)
25-Hydroxycholecalciferol (25-OHD₃). I. Treatment for parturient paresis.
J Dairy Sci **56**(7): S. 885-8
- OLSON, W. G.; JORGENSEN, N. A.; BRINGE, A. N.; SCHULTZ, L. H. und DELUCA, H. F. (1974)
25-Hydroxycholecalciferol(25-OH-D₃). 3. Effect of dosage on soft tissue integrity and vitamin D activity of tissue and milk from dairy cows.
J Dairy Sci **57**(6): S. 677-82
- OLSON, W. G.; JORGENSEN, N. A.; SCHULTZ, L. H. und DELUCA, H. F. (1973)
25-Hydroxycholecalciferol (25-OHD₃). II. Efficacy of parenteral administration in prevention of parturient paresis.
J Dairy Sci **56**(7): S. 889-95
- PENG, J. B.; BROWN, E. M. und HEDIGER, M. A. (2003)
Apical entry channels in calcium-transporting epithelia.
News Physiol Sci **18**: S. 158-63
- PHILLIPPO, M.; REID, G. W. und NEVISON, I. M. (1994)
Parturient hypocalcaemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotropic hormones.
Res Vet Sci **56**(3): S. 303-9
- RADOSTITIS, O. M. (2000)
Parturient paresis (milk fever)
London, New York, Philadelphia, San Francisco, Sydney: Saunders Verlag
- RAMBERG, C. F., JR.; JOHNSON, E. K.; FARGO, R. D. und KRONFELD, D. S. (1984)
Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia.
Am J Physiol **246**(5 Pt 2): S. R698-704
- REINHARDT, T. A.; HORST, R. L. und GOFF, J. P. (1988)
Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **4**(2): S. 331-50
- RIGGS, B. L.; KHOSLA, S. und MELTON, L. J., 3RD (1998)
A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men.
J Bone Miner Res **13**(5): S. 763-73
- RINGARP, N.; RYDBERG, C.; DAMBERG, O. und BOSTROM, B. (1967)
[Study of a prophylactic therapy of puerperal paresis in cows by means of oral administration of calcium chloride gel].
Zentralbl Veterinarmed A **14**(3): S. 242-51

- RITTER, C. S.; ARMBRECHT, H. J.; SLATOPOLSKY, E. und BROWN, A. J. (2006)
25-Hydroxyvitamin D₃ suppresses PTH synthesis and secretion by bovine parathyroid cells.
Kidney Int **70**(4): S. 654-9
- RIVERA, J. D.; BACHMAN, S. E.; HUBBERT, M. E.; BRANINE, M. E.; HORST, R. L.;
WILLIAMS, S. N. und GALYEAN, M. L. (2005)
Short communication: serum and tissue concentrations of vitamin D metabolites in beef
heifers after buccal dosing of 25-hydroxyvitamin D₃.
J Dairy Sci **88**(4): S. 1364-9
- ROCHE, J. R. (2003)
Energy nutrition of the pasture-based transition cow - a review.
Acta Vet Scand Suppl **97**: S. 57-63
- ROWLING, M. J.; GLINIAK, C.; WELSH, J. und FLEET, J. C. (2007)
High dietary vitamin D prevents hypocalcemia and osteomalacia in CYP27B1 knockout mice.
J Nutr **137**(12): S. 2608-15
- SCHWARZ, P.; SORENSEN, H. A.; MCNAIR, P. und TRANSBOL, I. (1993)
Cica-clamp technique: a method for quantifying parathyroid hormone secretion: a sequential
citrate and calcium clamp study.
Eur J Clin Invest **23**(9): S. 546-53
- SOMMERFELDT, J. L.; NAPOLI, J. L.; LITLEDIKE, E. T.; BEITZ, D. C. und HORST, R. L.
(1983)
Metabolism of orally administered [3H]ergocalciferol and [3H]cholecalciferol by dairy calves.
J Nutr **113**(12): S. 2595-600
- SONG, Y.; PENG, X.; PORTA, A.; TAKANAGA, H.; PENG, J. B.; HEDIGER, M. A.; FLEET, J. C.
und CHRISTAKOS, S. (2003)
Calcium transporter 1 and epithelial calcium channel messenger ribonucleic acid are
differentially regulated by 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in the intestine and kidney of mice.
Endocrinology **144**(9): S. 3885-94
- STAUFENBIEL, R. (1999)
Vier Strategien gegen Milchfieber.
Top Agrar **9**: S. 16-19
- STAUFENBIEL, R. (2000)
Prophylaxe der Gebärparese, Teil 2.
Nutztier Spiegel **1**: S. 58-61
- STAUFENBIEL, R. (2004)
Gebärparese
Stuttgart: Parey Verlag- ISBN:3-8304-4092-8

- TAYLOR, M. S.; KNOWLTON, K. F.; MCGILLIARD, M. L.; SEYMOUR, W. M. und HERBEIN, J. H. (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**(6): S. 2408-16
- THILSING-HANSEN, T.; JORGENSEN, R. J. und OSTERGAARD, S. (2002)
Milk fever control principles: a review.
Acta Vet Scand **43**(1): S. 1-19
- THILSING-HANSEN, T.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, J. M. und LARSEN, T. (2002a)
The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis.
J Dairy Sci **85**(7): S. 1855-62
- THILSING-HANSEN, T.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, J. M.; ZELVYTE, R. und SEDEREVICIUS, A. (2003)
The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving.
Acta Vet Scand Suppl **97**: S. 87-95
- VAN ABEL, M.; HUYBERS, S.; HOENDEROP, J. G.; VAN DER KEMP, A. W.; VAN LEEUWEN, J. P. und BINDELS, R. J. (2006)
Age-dependent alterations in Ca²⁺ homeostasis: role of TRPV5 and TRPV6.
Am J Physiol Renal Physiol **291**(6): S. F1177-83
- VAN DE BRAAK, A. E.; VAN 'T KLOOSTER, A. T. und MALESTEIN, A. (1986)
Influence of prepartum calcium intake on calcium mobilization rate around parturition in dairy cows fed at a high prepartum feeding level.
Vet Q **8**(1): S. 24-37
- VAN DE GRAAF, S. F.; HOENDEROP, J. G. und BINDELS, R. J. (2006)
Regulation of TRPV5 and TRPV6 by associated proteins.
Am J Physiol Renal Physiol **290**(6): S. F1295-302
- VON ENGELHARDT, W. und BREVES, G. H. (2000)
Physiologie der Haustiere
Stuttgart: Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG- ISBN:3-8304-1039-5
- WARSHAWSKY, H.; GOLTZMAN, D.; ROULEAU, M. F. und BERGERON, J. J. (1980)
Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat.
J Cell Biol **85**(3): S. 682-94
- WERTZ, A. E.; KNIGHT, T. J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J. und BEITZ, D. C. (2004)
Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness.
J Anim Sci **82**(5): S. 1410-8
- WHITE, P. und COOKE, N. (2000)
The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein.
Trends Endocrinol Metab **11**(8): S. 320-7

WIESNER, E. H. und RIBBECK, R. H. (2000)

Lexikon der Veterinärmedizin

Stuttgart: Enke im Hippokrates Verlag GmbH- ISBN:3-7773-1459-5

ZIEROLD, C.; MINGS, J. A. und DELUCA, H. F. (2003)

Regulation of 25-hydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase mRNA by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and parathyroid hormone.

J Cell Biochem **88**(2): S. 234-7

9. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

Abb. 1: Schematische Darstellung der Regulation des Calcium-Haushalts durch ein 3-Wege-System (nach (Fleet, 2006)).....	3
Abb. 2: Verhalten von PTH bei Ca-Unterversorgung (nach (Fleet, 2006)). Ein Abfall des ionisierten Calciums verursacht eine vermehrte Freisetzung von PTH und damit eine Aktivierung der PTH-abhängigen Regulationsschritte in Niere und Knochen.....	5
Abb. 3: Die synthetischen und metabolischen Einflüsse von Vitamin D auf die Regulation des Ca ²⁺ -, Phosphat- und Knochenstoffwechsels (nach (Holick, 2007))	8
Abb. 4: Immunregulatorische Wirkung von Vitamin D auf <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (nach (Holick, 2007)).....	11
Abb. 5: Mechanismen des epithelialen Ca ²⁺ -Transports durch das Darmepithel (nach (Hoenderop <i>et al.</i> , 2005)).....	13
Abb. 6: Calcium-Homöostase während der <i>peripartalen</i> Phase (nach (Goff <i>et al.</i> , 1991b; Staufenbiel, 2004)).....	26
Abb. 7: Strategien zur Vermeidung einer Gebärpause (CAD = Kationen-Anionen-Differenz) (nach (Horst <i>et al.</i> , 1997)).....	30
Abb. 8: Einfluss des DCAB-Konzeptes auf die Gebärpause (nach (Horst <i>et al.</i> , 2005)).	31
Abb. 9: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentrationen (Ca _{tot}) bei allen Tieren (oben) und ohne die Tiere, die eine Hypocalcämie-Behandlung erhalten hatten (unten) von vier Gruppen mit unterschiedlichen 25(OH)D ₃ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	47
Abb. 10: Mittelwerte der Gesamtmagnesiumkonzentrationen (Mg _{tot}) von vier Gruppen à 12 Tieren mit unterschiedlichen 25(OH)D ₃ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Mg _{tot} wurde grau unterlegt.	48
Abb. 11: Mittelwerte der Phosphatkonzentrationen (P) von vier Gruppen à 12 Tieren mit unterschiedlichen Dosierungen. Der Referenzbereich von P wurde grau unterlegt.....	49
Abb. 12: Mittelwerte (MW) und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der Kontrollgruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	51
Abb. 13: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 0.5 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.....	52
Abb. 14: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 1.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.....	53
Abb. 15: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 2.0 mg-Gruppe und deren Standardabweichung. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.....	54
Abb. 16: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> (schraffierter Bereich) von Ca _{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der Kontrollgruppe (links) und der 0.5 mg-Gruppe (rechts).	55
Abb. 17: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> (schraffierter Bereich) von Ca _{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der 1.0 mg-Gruppe (links) und der 2.0 mg-Gruppe (rechts).	56
Abb. 18: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> der Ca _{tot} -Mittelwerte der einzelnen Gruppen.	57
Abb. 19: Vergleich der AUC-Werte (Boxplots) von Ca _{tot} zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer) vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 18 und Tab. 14)].....	59
Abb. 20: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D ₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelte Tiere.....	60
Abb. 21: Darstellung der AUC-Werte (schraffierter Bereich) von 25(OH)D ₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.	62
Abb. 22: Vergleich der AUC-Werte (Boxplots) von 25(OH)D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer; * = Extremwerte) vom 1. bis zum	

Verzeichnis der Abbildungen

22. Supplementationstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 21 und Tab. 15)].....	63
Abb. 23: Mittelwerte der Dihydroxycholecalciferolkonzentrationen [1,25(OH) ₂ D ₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.....	66
Abb. 24: Darstellung der <i>AUC</i> -Werte (schraffierter Bereich) von 1,25(OH) ₂ D ₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe	68
Abb. 25: Vergleich der <i>AUC</i> -Werte (Boxplots) von 1,25(OH) ₂ D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe (o = Ausreißer; * = Extremwerte) von der Abkalbung bis zum 5. Tag <i>p.p.</i> [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 0.5 mg; 3 = 1.0 mg; 4 = 2.0 mg); (siehe Abb. 24 und Tab. 17)].....	70
Abb. 26: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentrationen (Ca _{tot}) bei allen Tieren (oben) und ohne die Tiere, die eine Hypocalcämie-Behandlung erhalten hatten (unten) von vier Gruppen mit unterschiedlichen 25(OH)D ₃ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	71
Abb. 27: Mittelwerte der Gesamtmagnesiumkonzentrationen (Mg _{tot}) von vier Gruppen à 12 Tiere mit unterschiedlichen 25(OH)D ₃ – Dosierungen. Der Referenzbereich von Mg _{tot} wurde grau unterlegt.	73
Abb. 28: Mittelwerte der Phosphatkonzentrationen (P) von vier Gruppen à 12 Tiere mit unterschiedlichen Dosierungen. Der Referenzbereich von P wurde grau unterlegt.....	74
Abb. 29: Mittelwerte (MW) und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der Kontrollgruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	75
Abb. 30: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 1.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	76
Abb. 31: Mittelwerte und Standardabweichung der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 2.0 mg-Gruppe. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.	77
Abb. 32: Mittelwerte der Gesamtcalciumkonzentration (Ca _{tot}) der 4.0 mg-Gruppe und deren Standardabweichung. Der Referenzbereich von Ca _{tot} wurde grau unterlegt.....	78
Abb. 33: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> (schraffierter Bereich) von Ca _{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der Kontrollgruppe (links) und der 1.0 mg-Gruppe (rechts).	80
Abb. 34: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> (schraffierter Bereich) von Ca _{tot} und deren Unterschied zwischen bester (unten) und schlechtester Kuh (oben) innerhalb der 2.0 mg-Gruppe (links) und der 4.0 mg-Gruppe (rechts).	81
Abb. 35: Darstellung der <i>Areas under the curve</i> der Ca _{tot} -Mittelwerte der einzelnen Gruppen.	82
Abb. 36: Vergleich der <i>AUC</i> -Werte (Boxplots) von Ca _{tot} zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 35 und Tab. 19)].	84
Abb. 37: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D ₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.....	85
Abb. 38: Darstellung der <i>AUC</i> -Werte (schraffierter Bereich) von 25(OH)D ₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.	87
Abb. 39: Vergleich der <i>AUC</i> -Werte (Boxplots) von 25(OH)D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 38 und Tab. 20)].	88
Abb. 40: Mittelwerte der Dihydroxycholecalciferolkonzentrationen [1,25(OH) ₂ D ₃] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe inklusive (oben) bzw. exklusive (unten) behandelter Tiere.....	90
Abb. 41: Darstellung der <i>AUC</i> -Werte (schraffierter Bereich) von 1,25(OH) ₂ D ₃ der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.	93

Abb. 42: Vergleich der *AUC*-Werte (Boxplots) von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zwischen den supplementierten Gruppen zur Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag *p.p.* [(Grp. 1 = 0 mg; 2 = 1.0 mg; 3 = 2.0 mg; 4 = 4.0 mg); (siehe Abb. 41 und Tab. 22)]. 95

10. VERZEICHNIS DER TABELLEN

Tab. 1:	Versuchsbedingungen und Resultate zahlreicher Untersuchungen des Effekts einer 25(OH)D ₃ -Applikation auf die Gebärpareseinzidenz (GPI) des Milchrinds. Tab. 1 wurde aus der Dissertation von <i>Kosmol</i> übernommen (Kosmol, 2007).	16
Tab. 2:	Versuchsbedingungen und Resultate bisheriger Untersuchungen des Effekts einer Vitamin D ₂ - oder Vitamin D ₃ -Applikation auf die Gebärpareseinzidenz (GPI), den 1,25(OH) ₂ D ₃ -Spiegel und die Plasmacalciumkonzentration des Milchrinds.....	18
Tab. 3:	Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Trockensteher 1) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	36
Tab. 4:	Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Trockensteher 2) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	36
Tab. 5:	Analysenwerte (aus 7 Proben) der TMR (Starter) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	37
Tab. 6:	Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Trockensteher 1) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	37
Tab. 7:	Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Trockensteher 2) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	38
Tab. 8:	Analysenwerte (aus 6 Proben) der TMR (Starter) bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). <i>Dietary-cation-anion-balance</i> berechnet als DCAB [meq/kg TS] = (Na ⁺ + K ⁺) – (Cl ⁻ + SO ₄ ²⁻).	38
Tab. 9:	Zusammenstellung der im Klinischen Labor der <i>Klinik für Rinder (TiHo-Hannover)</i> untersuchten Probenparameter und verwendete Analysemethoden, Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.	42
Tab. 10:	Zusammenstellung der selbstständig untersuchten Probenparameter, verwendete Analysemethoden und Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.	42
Tab. 11:	Zusammenstellung der im Analytical Research Center der <i>Firma DSM Nutritional Products</i> untersuchten Probenparameter, verwendete Analysemethoden und Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.	42
Tab. 12:	Übersicht der Tiere, die wegen Hypocalcämie oder Gebärparese mit einer Ca-Infusion behandelt wurden.	45
Tab. 13:	Mittelwerte der einzelnen Standardabweichungen von Ca _{tot} [mmol/l].	54
Tab. 14:	Vergleich der AUC-Werte von Ca _{tot} zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 18 und Abb. 19).	58
Tab. 15:	Vergleich der AUC-Werte von 25(OH)D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 22. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 21 und Abb. 22).	64
Tab. 16:	Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D ₃ , ng/ml] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle (Vgl. auch Abb. 20).	65
Tab. 17:	Vergleich der AUC-Werte von 1,25(OH) ₂ D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 24 und Abb. 25).	69
Tab. 18:	Mittelwerte der einzelnen Standardabweichungen von Ca _{tot} [mmol/l].	79
Tab. 19:	Vergleich der AUC-Werte von Ca _{tot} zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 35 und Abb. 36).	83

Verzeichnis der Tabellen

Tab. 20: Vergleich der <i>AUC</i> -Werte von 25(OH)D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe vom 1. bis zum 7. Supplementationsstag und von der Abkalbung bis zum 10. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 38 und Abb. 39).....	89
Tab. 21: Mittelwerte der Hydroxycholecalciferolkonzentrationen [25(OH)D ₃ , ng/ml] der supplementierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle (Vgl. auch Abb. 37).....	89
Tab. 22: Vergleich der <i>AUC</i> -Werte von 1,25(OH) ₂ D ₃ zwischen den supplementierten Gruppen und der Kontrollgruppe von der Abkalbung bis zum 5. Tag <i>p.p.</i> (Vgl. auch Abb. 41 und Abb. 42).	94

11.DANKSAGUNG

...an Herrn **Prof. Dr. Holger Martens**

Bei meinem Doktorvater möchte ich mich vor allem für das Vertrauen und die Überlassung des interessanten Themas bedanken. Ein ganz großes Dankeschön möchte ich Ihm für seine unglaublich nette und ausgezeichnete Betreuung aussprechen. Ich hatte zu keinem Zeitpunkt das Gefühl, bei scheinbar unlösbaren Aufgaben oder Problemen allein gelassen zu werden. Ganz besonders hervorheben möchte ich, dass trotz seiner knapp bemessenen Zeit stets die Tür für jedermann offen stand!

... an die **Firma DSM Nutritional Productions**

Ohne die finanzielle Unterstützung sowie die Bereitstellung des 25(OH)D₃-Präparates wäre es nicht möglich gewesen, diese Arbeit so schnell und erfolgreich durchzuführen. Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Azem Elisabeth und Herrn Dr. Wolfgang Steinberg für die stets nette und produktive Zusammenarbeit, sowie den Mitarbeitern des Labors für die schnelle Bearbeitung meiner Proben.

...an Herrn **Dr. Lothar Jäkel**

Etwas besseres kann einem Anfangsassistenten oder Doktoranden nicht passieren, als mit so einem kompetenten und stets netten Tierarzt mitzuarbeiten. Er wäre der perfekte Lehtierarzt für die praktische Ausbildung der Studenten, da er mit unglaublich großer Freude und Geduld versucht, sein Wissen an junge Leute weiterzugeben. Er war sich auch nicht zu schade, einem bei seinen Versuchen unter die Arme zu greifen, wenn man auf Hilfe angewiesen war. Jederzeit stand er mit Rat und Tat zur Seite, und wenn es sein Zeitplan erlaubte, hat er einem sogar die Thüringer Küche und Kultur näher gebracht! Ein ganz herzliches Dankeschön, dass ich diese Arbeit in Deiner Obhut durchführen konnte.

...an Frau **Dr. Anna Kosmol**

Vielen Dank Anna, für Deine ausgezeichnete Betreuung zu Beginn meiner Arbeit. Ohne Dich wäre alles ziemlich fremd und mühsam gewesen. Ich bin froh dass Du mir am Anfang alles erklärt hast und mir in organisatorischer Hinsicht vieles abgenommen hast. Deine Hilfestellungen mit Excel, SigmaPlot usw. haben mir einen guten Start ermöglicht. Außerdem danke ich Dir für Deine Geduld im beantworten meiner zahlreichen Fragen zu Beginn meiner Dissertation und für die ausgezeichnete Vertretung.

Ein herzliches Dankeschön

...an alle **Mitarbeiter** der **Milchviehanlage Schwabhausen**, die mich stets mit Freuden nachts aus dem Bett geklingelt haben und mich immer mit vollem Einsatz unterstützt haben! Ihr seit alle so nett zu mir gewesen und ich werde Euch alle vermissen. Es war schön mit Euch zusammen zu arbeiten! Ein ganz herzliches Dankeschön!

...an Herrn **Jürgen Pfeiffer**

Mit Dir war stets eine sehr angenehme und lustige Atmosphäre in der Praxis. Ich danke Dir, dass Du mich bei meinen praktischen Aufgaben vor allem zu Beginn der Arbeit so toll unterstützt hast und das ich auf Dich zählen konnte, wenn mal etwas für meinen Versuch zu tun war. Außerdem danke ich Dir für Deine Geduld beim Besamen und Deinen hilfreichen Tipps im Umgang mit dem Herderechner.

...an die **Mitarbeiter** des **Labors der Rinderklinik der TiHo Hannover** für die nette sowie zügige Bearbeitung der zahllosen Blutproben.

...an Frau **Dr. Lisa Bachmann**

Dir danke ich ganz besonders dass Du mir beim Einstieg in SPSS so toll geholfen hast. Ohne Deine Unterstützung hätte ich mich mit Leuten beschäftigen müssen, die einem überhaupt nicht weiterhelfen können. Außerdem für die netten Frühstückszeiten, das war immer sehr lustig! Vielen vielen Dank!

...an Herrn **Dr. Peter Wenning**

Dir lieber Peter danke ich als meinen Mitdoktoranden und Zimmerkollegen für Deine nette Gesellschaft und die tollen Sprüche jeden Tag. Die fehlen mir, genauso wie ich Deine süße „Buffy“ vermisse. Außerdem danke ich Dir für die nicht selbstverständliche und gewissenhafte Vertretung.

...an Herrn **Michael Feske**

Zum Glück haben sie Dich zu mir gesetzt, denn sonst hätte ich wohl nie mitbekommen, was für ein Computergenie Du bist. Ich danke Dir ganz herzlich für Deine Geduld und allzeit große Unterstützung, wenn es denn Probleme mit dem lieben Rechner gab, oder große Datenmengen bewegt und verarbeitet werden mussten. Außerdem danke ich Dir für die Formatierung meiner Dissertation, was ohne Deine Anstrengungen sicher ein noch größeres / ernsteres Problem geworden wäre, als es sowieso schon war.

...an Frau **Katharina Wolf**

Auch Dir möchte ich ganz besonders danken. Dafür das Du für mich Deine Zeit geopfert hast und so intensiv und geduldig die Auswertung meiner Daten und Erstellung der Statistik vorangetrieben hast. Ich bin froh, dass du mich dabei gerne unterstützt hast! Vielen Dank!

...an Frau **Annette Foro**

Dir als meine Mitstreiterin im Betrieb danke ich für Deine nette Gesellschaft und Hilfsbereitschaft. Es war sehr angenehm mit Dir zusammen zu arbeiten und ich wünsche Dir auf diesem Wege alles gute für die Zukunft!

...an Frau **Dr. Caroline Deiner** und Frau **Dr. Ulrike Lodemann**

Dafür das Ihr Eure kostbare Zeit geopfert und die Mühen auf Euch genommen habt, um meine Dissertation zu korrigieren. Vielen Dank!

...an alle **Mitarbeiter** des **Instituts für Veterinär-Physiologie** der Freien Universität Berlin

Ich bin so froh, dass ich in diesem Institut gelandet bin! Die Arbeitsatmosphäre war fantastisch und die Bedingungen zur Durchführung einer Dissertation hervorragend. Das lag nicht zuletzt an Euch allen, die einem stets zur Seite gestanden haben, wenn man Probleme zu lösen hatte! Vielen Dank!

...an Herrn **Christoph Schröter**

Meinem Gastwirt möchte ich für die nette Unterbringung und für das hervorragende Essen danken! Außerdem hast Du all meine Sonderwünsche kommentarlos erfüllt, was heutzutage nicht mehr selbstverständlich ist! Vielen Dank und bis zum nächsten Fasching!!

12.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 21.11.2008

Zechner, Gerhard
