

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand:
Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. W. A. Rambeck

**Untersuchungen zum Einsatz eines
Vitamin D-haltigen Pflanzenprodukts von
Solanum glaucophyllum
zur Prävention der
hypocalcämischen Gebärparese des
Rindes**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Sabine Hildegard Schlötterer-Wieser geb. Schlötterer

aus Schwabach

München 2008

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Rambeck
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Klee

Tag der Promotion: 8. Februar 2008

Für meine Eltern und Dietmar

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung.....	1
2	Literatur	3
2.1	Das Krankheitsbild der Hypocalcämischen Gebärpause.....	3
2.1.1	Wesen und Pathogenese.....	3
2.1.2	Inzidenz	4
2.1.3	Klinisches Bild.....	4
2.1.4	Labordiagnostische Veränderungen.....	6
2.1.5	Prädisponierende Faktoren.....	6
2.1.6	Therapie.....	9
2.1.7	Wirtschaftliche Bedeutung.....	10
2.1.8	Prophylaxemaßnahmen.....	11
2.1.8.1	Rationsgestaltung.....	11
2.1.8.2	Orale Verabreichung von Calcium.....	13
2.1.8.3	Einsatz von Zeolite.....	15
2.1.8.4	Sonstige Maßnahmen	16
2.1.8.5	Vitamin D und dessen Metaboliten	17
2.2	Der Wirkstoff Vitamin D	20
2.2.1	Bildung, Wirkung und Metabolisierung im Organismus.....	20
2.2.2	Calcium- und Phosphor- Homöostase	23
2.2.2.1	Calciumresorption aus dem Darm	25
2.2.2.2	Calciumresorption in der Niere	27
2.2.2.3	Einfluss von Vitamin D auf den Knochenstoffwechsel.....	28
2.2.3	Weitere Wirkungen von Vitamin D ₃	30
2.3	Kalzinose und kalzinogene Pflanzen	33
2.3.1	Kalzinogene Pflanzen	33
2.3.1.1	Solanum glaucophyllum.....	34
2.3.1.2	Trisetum flavescens.....	35
2.3.1.3	Vorkommen von Kalzinose.....	37
2.3.2	Kalzinose.....	38
2.3.2.1	Klinische Symptome	38
2.3.2.2	Labordiagnostische Befunde	40
2.3.2.3	Pathologisch- anatomische Befunde	40
2.3.2.4	Pathohistologische Befunde.....	41
2.3.2.5	Therapie und Prophylaxe.....	42
2.3.2.6	Wirtschaftliche Bedeutung.....	43

2.3.3	Therapeutischer Einsatz kalzinogener Pflanzen (<i>Solanum glaucophyllum</i> und <i>Trisetum flavescens</i>)	44
3	Material und Methoden	47
3.1	Versuchstiere	47
3.2	Gruppeneinteilung	48
3.2.1	Vorversuch.....	48
3.2.2	Hauptversuch.....	48
3.3	Daten der Probanden	48
3.3.1	Vorversuch 1a: Erfassung des Verlaufs des Serum-Calciumspiegels ohne Solanum- Applikation	48
3.3.2	Vorversuch 1b: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum-Applikation.....	49
3.3.3	Vorversuch 2: Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum-Applikation im präpartalen Zeitraum.....	49
3.3.4	Hauptversuch.....	50
3.4	Versuchsaufbau	51
3.4.1	Gruppeneinteilung	51
3.4.2	Vorversuche.....	52
3.4.2.1	Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels ohne Solanum- Applikation.....	52
3.4.2.2	Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum- Applikation.....	53
3.4.2.3	Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum- Applikation im präpartalen Zeitraum.....	53
3.4.3	Hauptversuch.....	54
3.5	Überführung des Wirkstoffes in eine applizierbare Form.....	55
3.6	Probennahme	55
3.7	Untersuchte Parameter	56
3.7.1	Bestimmung des Calciumgehalts im Serum	56
3.7.2	Bestimmung des Phosphatgehalts im Serum.....	56
3.7.3	Bestimmung des Magnesiumgehalts im Serum	57
3.8	Fütterung	58
3.8.1	Weender-Analyse des Futters.....	58
3.8.1.1	Trockensubstanz-Bestimmung	58
3.8.1.2	Rohfaser-Bestimmung	59
3.8.1.3	Rohasche-Bestimmung	60
3.8.1.4	Rohprotein-Bestimmung	60

3.8.1.5	Rohfett-Bestimmung.....	62
3.8.1.6	Calcium-, Phosphor- und Magnesiumgehalt des Futters	62
3.9	Statistische Auswertung.....	64
4	Ergebnisse	65
4.1	Klinische Erscheinungen.....	65
4.1.1	Vorversuch 1a: Erfassung des Verlaufs des Serum-calciumspiegels ohne Solanum- Applikation	65
4.1.2	Vorversuch 1b: Erfassung des Verlaufs des Serum-calciumspiegels nach Solanum- Applikation	65
4.1.3	Vorversuch 2: Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum- Applikation im präpartalen Zeitraum.....	65
4.1.4	Hauptversuch.....	66
4.2	Laborchemische Parameter.....	68
4.2.1	Serumcalciumgehalt	68
4.2.1.1	Vorversuche.....	69
4.2.1.2	Hauptversuch	74
4.2.2	Phosphatgehalt im Serum	78
4.2.3	Magnesiumgehalt im Serum.....	81
4.3	Weender-Analyse und Bestimmung des Mineralstoffgehalts des Futters	86
4.3.1	Weender-Analyse des Futters.....	86
4.3.2	Bestimmung des Mineralstoffgehalts des Futters.....	86
5	Diskussion.....	87
5.1	Studiendesign	87
5.1.1	Auswahl der Probanden	87
5.1.1.1	Vorversuch.....	87
5.1.1.2	Hauptversuch	87
5.1.2	Ablauf der Studie.....	89
5.1.3	Haltung und Fütterung der Tiere	90
5.1.4	Praktische Durchführung der Studie im Rahmen eines Feldversuchs	90
5.2	Wahl der Beurteilungskriterien	91
5.3	Klinische Erscheinungen.....	92
5.3.1	Vorversuche.....	92
5.3.2	Hauptversuch.....	93
5.4	Serumcalciumspiegel.....	94
5.4.1	Serumcalciumspiegel in den Vorversuchen.....	94

5.4.2	Serumcalciumspiegel im Hauptversuch	96
5.5	Serumphosphatgehalt.....	98
5.6	Serummagnesiumgehalt.....	100
5.7	Dosierung der Wirkstoffkomponente.....	101
5.8	Abschließende Beurteilung	102
6	Zusammenfassung	104
7	Summary	106
8	Literaturverzeichnis.....	108
9	Abbildungsverzeichnis.....	152
10	Tabellenverzeichnis	153
11	Danksagung.....	155
12	Lebenslauf	156

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
a. p.	ante partum
AST	(Serum-) Aspartat-Amino-Transferase
Ca	Calcium
CaBP	Calciumbindendes Protein, Calbindin
CK	(Serum-) Kreatin-Kinase
Cl	Chlorid
DBP	Vitamin D- bindendes Protein
DCAD	Dietary cation- anion- difference
HCl	Salzsäure
HNO ₃	Salpetersäure
IE	Internationale Einheit
K	Kalium
KOH	Kalilauge
Mg	Magnesium
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
Na	Natrium
NaOH	Natriumhydroxid (Natronlauge)
NSAID	nichtsteroidale Antiphlogistika
ODF	Osteoklastendifferenzierender Faktor
P	Phosphat
p. p.	post partum
PTH	Parathormon
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett

Rpr	Rohprotein
S	Schwefel
S.g.	Solanum glaucophyllum
SD	Standardabweichung
TCA	Trichloressigsäure
TMR	Total Mixed Ration
TS	Trockensubstanz
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferol
25(OH)D ₃	25-Hydroxycholecalciferol

Symbole

↑

Steigerung, chem.: Verflüchtigung

1 Einleitung und Problemstellung

Bei der hypocalcämischen Gebärparese handelt es sich um eine akute Störung des Calciumstoffwechsels von Milchkühen aber auch von anderen laktierenden Spezies. Die oft auch als „Milchfieber“ bezeichnete Krankheit tritt meist um den Zeitpunkt der Kalbung auf. Das besondere Merkmal dieser Krankheit ist das Unvermögen des Organismus, den gesteigerten Calciumbedarf zu Beginn der Laktation zu decken (Horst, 1986). Angaben über die Inzidenz variieren zwischen 5% (Horst, 1986) und 27% (Lucey und Rolands, 1983). Mit zunehmender Anzahl der Kalbungen steigt auch die Inzidenz. In 5 bis 10 % der Fälle endet die Erkrankung tödlich (Gründer, 1985)

Damit verbunden ist eine erhöhte Anfälligkeit für Folgeerkrankungen wie Mastitis, Retentio secundinarum, Labmagenverlagerung, u. a. Aus diesen Gründen kommt der Prophylaxe dieser Erkrankung eine besondere Bedeutung zu.

Neben besonderen Fütterungsmaßnahmen in der Transitphase und kurzzeitiger Verabreichung von schnell resorbierbaren Calciumsalzen, stellt auch die orale oder parenterale Applikation von Vitamin D₃ oder von Vitamin D-Metaboliten eine Prophylaxemaßnahme dar. Hierbei wurden auch Untersuchungen zur Verabreichung von calcinogenen Pflanzen (Fricke, 1985; Buchelt, 1986) durchgeführt.

In den vorliegenden Untersuchungen sollte geprüft werden, ob durch die einmalige Gabe eines pflanzlichen Produktes aus *Solanum glaucophyllum*, welches den tierischen Vitamin D-Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol enthält, im Vergleich zur Applikation eines Calciumpräparates die Hypocalcämie und Hypophosphorämie beeinflusst werden kann und ob die klinischen Symptome der Hypocalcämie und das Absinken des Serumcalciumspiegels in den pathologischen Bereich verhindert werden können. Bei dem als Vergleich verabreichten Calciumpräparat handelt es sich um ein Mineralfuttermittel in Bolusform, das Calciumchlorid und Calciumsulfat enthält.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen einer Feldstudie in verschiedenen landwirtschaftlichen Betrieben unterschiedlicher Größe im Raum Mittelfranken durchgeführt.

2 Literatur

2.1 Das Krankheitsbild der Hypocalcämischen Gebärparese

2.1.1 Wesen und Pathogenese

Bei der Hypocalcämischen Gebärparese handelt es sich um eine Störung des Mineralstoffhaushaltes, die besonders bei Hochleistungskühen im geburtsnahen Zeitraum auftritt. Sie ist charakterisiert durch ein rasches Absinken des Serumcalciumspiegels, der durch den hohen Calcium-Bedarf für die Kolostrum-Produktion verursacht wird. Dieser muss durch vermehrte intestinale Calciumabsorption und vermehrte Resorption von Calcium aus dem Skelett gedeckt werden. Während der Trockenstehzeit sind diese Kompensationsmechanismen weitgehend inaktiv (Ramberg et al., 1984). Da zum Zeitpunkt der Geburt mindestens 30 g Ca/d mobilisiert werden müssen, kommt es bei allen Kühen am ersten Tag nach der Geburt zu einem Absinken des Calciumspiegels, bis der Organismus sich an die veränderten Anforderungen adaptiert hat. Bei einigen Kühen versagen diese Kompensationsmechanismen, so dass klinische Symptome sichtbar werden. Intravenöse Calciumgaben sind nötig, um die Kuh am Leben zu erhalten, bis sich der Organismus der veränderten Situation angepasst hat. Unbehandelt sterben etwa 60 bis 70 % der betroffenen Tiere (Hibbs, J.W. 1950).

Durch enterale Calciumresorption und Calciumfreisetzung aus dem Skelett wird der Calciumspiegel im Blutserum im physiologischen Bereich gehalten. Allerdings wird die Calciummobilisierung aus den austauschbaren Knochendepots erst 10 bis 14 Tage nach der Geburt bedeutsam (Ramberg et al., 1984), so dass in der ersten Laktationswoche die Höhe des Calciumspiegels vom Ausmaß der enteralen Resorption abhängig ist. Bei

vielen Kühen ist im peripartalen Zeitraum eine reduzierte Futteraufnahme zu beobachten, hinzu kommt häufig eine verminderte Pansentätigkeit, die individuell unterschiedlich lange andauern kann. (Dirksen und Kaufmann, 1978). Die Hypomotilität des Verdauungstraktes muss deshalb auch als Teilursache der Hypocalcämie angesehen werden (Jönsson, 1979).

Für die hormonelle Regulation des Calciumspiegels sind Parathormon, Calcitonin und das Vitamin D– Steroidhormon 1,25- Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) verantwortlich. Bei erkrankten Tieren konnten erhöhte Parathormonspiegel gemessen werden. Demzufolge liegt also keine Insuffizienz der Nebenschilddrüse vor (Mayer et. al., 1969; Jönsson, 1979).

2.1.2 Inzidenz

Die Häufigkeit von Milchfieber variiert in verschiedenen Ländern. So liegt die Milchfieber-Inzidenz in der Schweiz etwa bei 5,2 %. Eine Studie ergab einen Anstieg der Inzidenz von 2,4 % nach der dritten Geburt bis zu 21,8 % bei Tieren mit acht und mehr Geburten. Das Auftreten von Milchfieber ist also hauptsächlich vom Alter und auch von der Milchleistung abhängig, während die Rasse weniger Einfluss auf das Auftreten von Milchfieber hat (Liesegang, 2001)

In den Vereinigten Staaten entwickeln etwa 5,9 % der Kühe die klinisch manifeste Form der Hypocalcämie. (Goff und Horst, 2001).

Dem Jahresbericht 2004 der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft zufolge beträgt die Inzidenz in Deutschland in manchen Betrieben mehr als 10 %.

2.1.3 Klinisches Bild

Typischerweise treten die Symptome 24 bis 48 Stunden nach der Geburt auf, allerdings liegen auch manche Tiere bereits vor oder während der Geburt fest.

Die klinischen Symptome können je nach Schweregrad in verschiedene Stadien eingeteilt werden.

Die erste Phase ist gekennzeichnet durch Bewegungsunlust, Nervosität und Stehen mit steil gestellten Hintergliedmaßen bzw. unruhigem Trippeln. Desweiteren kann Hypersensibilität und Tetanie beobachtet werden. Oft treten Tachykardien und eine leichte Erhöhung der Körpertemperatur auf. Die Futteraufnahme ist reduziert (Rings et al., 1997), die Wiederkautätigkeit und die Pansenmotorik sind eingeschränkt. Der Serumcalciumspiegel liegt häufig unter 1,9 mmol/l (Horner et al., 2002).

Während der zweiten Phase tritt Festliegen in Brustlage auf, wobei der Kopf meistens seitlich eingeschlagen wird. Die Dauer dieser Phase beträgt 1 bis 12 Stunden. Das Flotzmaul ist trocken, die Extremitäten oder auch die gesamte Körperoberfläche erscheinen kühl. Ein leichtes Ankonäenzittern kann oft beobachtet werden. Der Herzschlag ist schwach und frequent. Die Rektumampulle ist gefüllt und eine leichte Tympanie kann beobachtet werden. Oftmals liegt der Serumcalciumspiegel bei etwa 1,3 mmol/l (Horner et al., 2002).

In Phase 3 liegen die Tiere in Seitenlage fest. Das Bewusstsein wird zunehmend trüber bis hin zu komatösen Zuständen. Es tritt eine sehr deutliche Tympanie auf. Die Herzfrequenz steigt bis zu 120 Schlägen/ min bei nicht mehr palpierbarem Puls (Oetzel, 1988). Die Atemtätigkeit wird oberflächlich und unregelmäßig (Martig, 2002). Ohne weitere Therapie tritt der Tod meist innerhalb von wenigen Stunden ein. In vielen Fällen wurde ein Serumcalciumspiegel von etwa 1 mmol/l beobachtet (Horner et al., 2002).

Allerdings besteht nach Martig (2002) keine sehr enge Korrelation zwischen dem Grad der Hypocalcämie und dem Symptom des Festliegens. Die meisten Kühe mit Serumcalciumkonzentrationen von 1,25 mmol/l und darunter liegen fest. Das Stehvermögen kann jedoch bereits bei einem Serumcalciumgehalt von 1,75 mmol/l verloren gehen.

2.1.4 Labordiagnostische Veränderungen

Der Referenzbereich für den Calciumgehalt im Serum liegt zwischen 2,1 und 2,7 mmol/l. Bei allen Kühen im peripartalen Zeitraum ist ein physiologisches Absinken des Serumcalciumspiegels zu beobachten. In den meisten Fällen unterschreitet dieser 1,9 mmol/l nicht (Martig, 2002). Ausfälle des Stehvermögens können schon bei Werten unter 1,75 mmol/l auftreten. Bei festliegenden Tieren liegen die Calciumwerte meist unter 1,25 mmol/l (Goff, 1999). Der Magnesiumspiegel ist meist geringfügig erhöht. Der Anstieg der Magnesiumkonzentration sowie der verminderte Phosphatspiegel sind Folgen der bei Hypocalcämie erhöhten PTH-Sekretion. PTH führt zu verminderter renaler Magnesiumausscheidung und zu erhöhter Phosphatausscheidung. Die Erkrankung kann aber je nach Fütterung (z. B. rasch gewachsenes Grünfutter) auch mit einer Hypomagnesämie einhergehen (Martig, 2002).

2.1.5 Prädisponierende Faktoren

Alter bzw. Zahl der Kalbungen

Mit zunehmendem Alter und ansteigender Zahl der Kalbungen steigt die Häufigkeit des Auftretens von Milchfieber. Zum Zeitpunkt der ersten Kalbung ist diese Krankheit nur in seltenen Ausnahmefällen zu beobachten. Eine Häufung von Milchfieberfällen wird erst ab der dritten Laktation beobachtet (Curtis et al., 1984). Eine Ursache dafür ist die mit der Zahl der Kalbungen steigende Milchleistung. Proportional zu dieser steigt der Bedarf an Calcium. Mit zunehmendem Alter nimmt auch die Fähigkeit ab, Calcium aus den Knochen zu mobilisieren. Der aktive intestinale Calciumtransport ist ebenso reduziert. Desweiteren ist die Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ beeinträchtigt. Aufgrund all dieser Faktoren kann sich der Organismus dem gesteigerten Calciumbedarf nicht mehr anpassen (Horst et al., 1978). Horst et al. (1990) erbrachten den Beweis, dass mit zunehmendem Alter die Zahl der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Rezeptoren vermindert ist. Dies konnte von Johnson et. al.

(1995) bestätigt werden, die außerdem herausfanden, dass verschiedene Faktoren, welche die Calcium-Absorption beeinflussen, mit zunehmenden Alter abnehmen. Hinzu kommt ein altersabhängiger Anstieg des Enzyms C-24hydroxylase, das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inaktiviert. Auch die Fähigkeit auf $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu reagieren, ist bei älteren Tieren vermindert (Horst et. al., 1990).

Rasse

Verschiedene Studien haben ergeben, dass die Rassen Channel Island und Swedish Red and White anfälliger für Milchfieber sind (Curtis et. al., 1970; Erb und Martin, 1978; Kusumanti et. al., 1993). Bei alten Jersey-Kühen liegt im Vergleich zu gleichaltrigen Holstein-Kühen eine verminderte Anzahl von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Rezeptoren im Darm vor (Goff et al., 1995). Desweiteren haben Rassen mit hohem Milchfettgehalt (Channel Island) eine höhere Gebärparese-Inzidenz als Kühe mit niedrigerem Milchfettgehalt oder Fleischrassen (Oetzel, 1991), wobei nach Liesegang (2001) der Einfluss der Rasse von untergeordneter Bedeutung ist.

Genetische Disposition

Die Disposition zur Erkrankung an Gebärparese wird sowohl durch Bullen als auch durch Kühe vererbt und ist mit dem genetischen Milchleistungspotential assoziiert (Uribe et al., 1995).

Frühere Erkrankungen an Gebärparese

Bei Kühen, die bereits in vorhergehenden Laktationen an Milchfieber erkrankt waren, ist die Wahrscheinlichkeit, erneut zu erkranken um mehr als das 3fache höher als bei Tieren, die noch nicht von Milchfieber betroffen waren. Es wird angenommen, dass dies in Zusammenhang mit dem genetischen Milchleistungspotential steht (Roche and Berry, 2006).

Einsatzleistung

Die Calcium-Konzentration des Kolostrums ist unabhängig von dessen Menge relativ konstant (ca. 2,3 g Ca/kg Kolostrum). Bei hohen Einsatzleistungen kommt es daher zu einem hohen Calcium-Verlust über die Milchdrüse, der durch die Kompensationsmechanismen nicht oder nur unvollständig ausgeglichen werden kann (Goff et al., 1991b).

Rationsgestaltung

Bei Überversorgung von trockenstehenden Kühen mit Calcium (>100 g/d) wird der Bedarf (etwa 40 g/ d) ausschließlich über die passive intestinale Absorption gedeckt, so dass es zur Inaktivität der transzellulären Transportmechanismen am Darm und zu einer herabgesetzten ossären Calcium-Mobilisation kommt (Goff et al., 1991b; Wang et al., 1994).

Unter Praxisbedingungen ist es aber oftmals schwierig, den Calciumgehalt in der Ration der Trockensteher niedrig zu halten, da der Calciumgehalt in den Grundfuttermitteln oftmals schon relativ hoch ist. Beispielsweise enthält 1 kg Grassilage (Trockensubstanz) durchschnittlich 6,9 g Calcium.

Aber auch exzessive Phosphatversorgung (>80 g/d bei einem Bedarf von 25 g/d) kann das Erkrankungsrisiko erhöhen. Durch die Phosphatzufuhr wird die renale $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Synthese gehemmt und damit kommt es zu einer verminderten intestinalen Calciumabsorption (Goff et al., 1991b).

Ernährungszustand

Bei energetischer Überfütterung in der Spätlaktation und in der Trockenstehperiode kommt es zur verstärkten Fetteinlagerung in Leber und Nieren. Dadurch wird die Hydroxylierung von Vitamin D_3 in beiden Organen eingeschränkt (Fürl, 1981). Außerdem ist bei verfetteten Kühen die Futteraufnahme und damit die Calciumaufnahme geringer als bei anderen Tieren ((Staufenbiel und Engelhard, 1999)). Hinzu kommt eine erhöhte Milchproteinproduktion bei diesen Tieren, verursacht durch den Abbau von

körpereigenen Reserven (Roche et al., 2005). Dadurch wird auch vermehrt Calcium ausgeschieden, da der Hauptanteil des Calciums in der Milch in den Casein-Micellen enthalten ist (Davies et al., 1983).

2.1.6 Therapie

Die heute noch gebräuchliche intravenöse Infusion mit Calciumborogluconat (Calciumgluconat mit einem Zusatz von Borsäure; Borsäure dient der Verbesserung der Löslichkeit) geht auf Greig (1930) zurück. Nach Gründer (1985) sind 15-20 mg Calcium/kg KGW oder 8 bis 10 g/500 kg KGW ausreichend, um die Hypocalcämie zu behandeln. Bethard et al. (1998) bestätigten diese Ansicht. Allerdings treten nach der Therapie häufig Rezidive auf. Nach Stolla et al. (2000) liegt der Erstbehandlungserfolg nur bei 44 %. Abele und Wolf (2000) verabreichten zusätzlich Phosphorbovisal® und erzielten Erstbehandlungserfolge von 90 %. Bei Phosphorbovisal® handelt es sich um ein Gel, das oral verabreicht wird und 45 g Phosphor und 55 g Calcium enthält.

Eine Untersuchung aus Dänemark ergab, dass bei einer Kombinationstherapie aus intravenösen Calciumgaben mit Euterinsufflation, die erstmals im Jahr 1897 von J.J. Schmidt beschrieben wurde, die Rezidivrate nur 14,8 % beträgt und die durchschnittliche Behandlungshäufigkeit bis zur Genesung bei 1,2 liegt. Bei der alleinigen Infusionstherapie lag die Rezidivrate bei 35,5 % und die Behandlungshäufigkeit bei 1,5 (Andersen, 2001).

Neben einer Verabreichung von calciumhaltigen Präparaten sollten in Seitenlage festliegende Tiere in Brustlage verbracht werden, um die Kreislaufbelastung zu vermindern. Bei länger andauerndem Festliegen müssen die Tiere mehrmals täglich gewendet und weich gelagert werden. Dies ist mit großem Aufwand für die betreuenden Landwirte verbunden und erfordert auch oftmals das Verbringen der Tiere in Tiefstreuboxen, welche in älteren Ställen häufig nicht vorhanden sind. Derartige Maßnahmen und Einrichtungen sind maßgeblich am Therapieerfolg beteiligt.

2.1.7 Wirtschaftliche Bedeutung

Wirtschaftliche Verluste entstehen sowohl bei der klinischen als auch bei der subklinischen Hypocalcämie. Bei Kühen, die in vorhergehenden Laktationen bereits an Milchfieber erkrankt waren, tritt dieser Fall mit hoher Wahrscheinlichkeit erneut ein. Durch die Erkrankung kann sich die Nutzungsdauer einer Kuh erheblich verkürzen. Der Milchverlust und auch der Totalverlust, der dadurch für den Landwirt entsteht, ist von großer wirtschaftlicher Bedeutung (Block, 1984).

Die Lähmungserscheinungen können zu starken Verletzungen am Bewegungsapparat führen, so dass auch deswegen der Verlust des Tieres die Folge sein kann (Gründer, 1985; Schültken und Moll, 1998).

Desweiteren sind die oft mit der Hypocalcämie auftretenden Folgeerkrankungen von Bedeutung. So ist bei hypocalcämischen Tieren das Risiko, dass es zu peripartalen Störungen, wie Schweregeburt, Retentio Secundinarum, Mastitis, Labmagenverlagerung und Ketose kommt, um ein Vielfaches höher (Curtis et al., 1983, Massey et al., 1993; Oetzel, 1996). Das gehäufte Auftreten von Schweregeburt, Prolaps uteri, Retentio secundinarum und Metritis in den ersten Wochen der Laktation lässt sich dadurch erklären, dass Calcium u.a. auch für die Muskelfunktion essentiell ist und die Hypocalcämie im peripartalen Zeitraum einen prädisponierenden Faktor für diese Erkrankungen darstellt (Gröhn et al., 1989).

Hinzu kommen Fruchtbarkeitsstörungen bei wieder genesenen Tieren. Ein Milchleistungsabfall von täglich bis zu drei Litern im Vergleich zu früheren Laktationen ist zu beobachten (Schültken und Moll, 1998).

Zu all den Verlusten kommen noch die Tierarzt- und Laborkosten hinzu. Nicht zu vergessen ist auch der zeitliche Aufwand des Landwirtes, wenn eine Kuh an Milchfieber oder an einer der oben genannten peripartalen Störungen erkrankt (Horst, 1986).

Die Kosten eines typischen Milchfieberfalles wurden auf etwa 350 € geschätzt. Dieser Betrag setzt sich aus den Behandlungskosten und den Produktionsverlusten zusammen (Deitner und Baumgartner, 2006).

2.1.8 Prophylaxemaßnahmen

2.1.8.1 Rationsgestaltung

DCAD (Dietary cation-anion difference)

Bereits im Jahr 1971 berichteten Ender et al., dass durch die Verfütterung von anorganischen Säuren an Milchkühe kurz vor der Geburt die Inzidenz von hypocalcämischer Gebärparese reduziert wurde. Durch einen Überschuss von Natrium- und Kaliumkationen im Verhältnis zu den Chlorid- und Sulfatanionen steigt die Milchfieber-Inzidenz. Auf diese Erkenntnis geht auch die Gleichung zurück, welche die DCAD zum Ausdruck bringt.

$$\text{DCAD (meq/kg TS)} = (\text{Na} + \text{K}) - \text{Cl} \text{ oder}$$

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

Welche Ionen mit in diese Gleichung einbezogen werden sollen, darüber herrschen unterschiedliche Auffassungen (Block, 1984). Nach Oetzel et al. (1991) sollte der Schwefelgehalt des Futters mit in die Berechnung der DCAD einbezogen werden, da die Sulfatsalze ähnlich wie die Chloride wirken. Allerdings wirken die Sulfatanionen weniger stark ansäuernd als die Chloridanionen. Durch die Chloridsalze werden Harn- und Blut-pH stärker erniedrigt als durch Sulfatsalze (Oetzel et al., 1991; Goff et al., 2003).

Nach Goff et al. (2003) sollte die Gleichung lauten:

$$\text{DCAD (meq/kg TS)} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + 0,6 \text{ S})$$

Verschiedene Studien haben übereinstimmend ergeben, dass die DCAD zwischen -50 meq/kg TS und -100 meq/kg TS betragen sollte, um die Inzidenz der Gebärparese zu senken. Dadurch wird eine schwache metabolische Azidose hervorgerufen. Diese soll eine gesteigerte Reaktionsfähigkeit der Zielgewebe auf Parathormon hervorrufen. (Gaynor et al., 1989; Goff et al., 1991a). Auch eine Steigerung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Produktion konnte bei den Tieren, welche eine Anionenüberschussration

(auch als Anionenration bezeichnet) erhalten, beobachtet werden (Abu Damir et al., 1994; Phillippo et al., 1994).

Bei den oben angeführten Gleichungen werden allerdings die Kationen Magnesium und Calcium und das Anion Phosphor nicht berücksichtigt. Die Wirkung dieser Ionen auf den Säuren-Basen-Status ist geringer und die nötigen Koeffizienten, welche die verminderte Wirkung ausdrücken könnten, sind noch nicht bekannt (Goff et al., 2003).

Die metabolische Azidose kann durch Zugabe von sauren Salzen zur Ration erreicht werden. Allerdings ist diese Möglichkeit durch die Schmackhaftigkeit der im Regelfall verwendeten Mischungen eingeschränkt (Oetzel und Barmore, 1993). Dies führt oft zu einer geringeren Trockensubstanzaufnahme (Thilsing-Hansen et al., 2002). Auch durch kationearme Rationen kann das oben genannte Ziel erreicht werden, allerdings muss der Bedarf der Kühe gedeckt sein. (National Research Council, 1989). Goff und Horst (1997) erbrachten den Beweis, dass Tiere, die kalium- und natriumarme Rationen erhielten, weniger oft an Milchfieber erkrankten als solche die kalium- und natriumreiche Rationen erhielten.

Calciumarme Rationen während der Trockenstehzeit

Durch die Verabreichung von calciumarmen Rationen (10 bis 20 g Ca/d, pro Tier) im präpartalen Zeitraum gerät der Organismus der hochträchtigen Kuh in eine negative Calciumbilanz, so dass die Parathormon- und 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Produktion angeregt wird (Green et al., 1981). Dies hat eine Aktivierung der Osteoklasten und somit eine Calciummobilisation aus dem Skelett zur Folge. Desweiteren wird die renale Rückresorption von Calcium gesteigert. Eine Aktivierung dieser Mechanismen verhindert zu Laktationsbeginn ein zu starkes Absinken des Calciumspiegels im Blut (Goings et al., 1974; Green et al., 1981; Kichura et al. 1982). Nach Green et al. (1981) soll der Calciumgehalt auf maximal 20 g/d reduziert werden, um eine signifikante Stimulierung der Nebenschilddrüsen und eine damit einhergehende, gesteigerte Parathormonsynthese zu erreichen.

Obwohl unter Praxisbedingungen oft nur eine Reduzierung bis auf 50 g/d möglich ist, wurden bereits damit gute Ergebnisse in der Reduktion der Milchfieber-Inzidenz erreicht (Jorgensen, 1974).

Allerdings wurde besonders in Zusammenhang mit Anionenrationen beobachtet, dass auch calciumreiche Rationen Milchfieber verhindern können (Beede et al., 1991; Ender et al., 1971; Oetzel et al., 1988). Calciumreiche Rationen sollen sogar eine Wirkungssteigerung der Anionenrationen hervorrufen (Oetzel et al., 1988; Beede, 1992). Auch nach Block (1994) muss bei einer niedrigen DCAD eine hohe Calciumaufnahme gewährleistet sein ($>1\%/kg$ TS TMR).

Allerdings muss erwähnt werden, dass bei den Versuchen mit calciumreichen Rationen (Goff und Horst, 1997) Calcium der Ration in Form einer Mischung von Chlorid, Sulfat, Phosphat und kohlensauren Salzen zugefügt wurde. Dies hatte keine signifikanten Auswirkungen auf Blut- und Urin-pH. Doch in den meisten Fällen wird die Calciumergänzung in Form von Calciumcarbonat vorgenommen, womit die Milchfieberinzidenz erhöht wird (Goings et al., 1974; Green et al., 1981; Kichura et al., 1982). Calciumcarbonat führt in ähnlicher Weise wie die Kationen Na und K zu einer Erhöhung des Blut-pH-Wertes und dementsprechend entwickeln die betroffenen Kühe eine metabolische Alkalose und Milchfieber.

2.1.8.2 Orale Verabreichung von Calcium

Eine weitere mögliche Prophylaxemaßnahme ist die orale Verabreichung von Calciumchlorid im peripartalen Zeitraum. Bei diesem Verfahren wird Calciumchlorid mehrere Tage vor der Geburt und ein bis zwei Tage nach der Geburt verabreicht und somit eine verringerte Inzidenz an hypocalcämischer Gebärfähigkeit bewirkt (Hallgren, 1965; Jonnson und Pehrson, 1970; Ringarp et al., 1967). Allerdings ist die orale Verabreichung von Calciumchlorid auch mit Nachteilen verbunden. Calciumchlorid ist stark schleimhautreizend und manche Produkte verursachen bei manchen Tieren Schleimhautläsionen im Maulbereich und Verdauungstrakt (Wermuth, 1990). Seit einiger Zeit sind aber auch Calciumpräparate mit sogenanntem geschütztem Calciumchlorid

erhältlich, die etwa 12 Stunden ante partum (12 h a.p), direkt post partum (p.p.) und 12 h und 24 h p.p. verabreicht werden. Hierbei handelt es sich um Calciumformulierungen in unterschiedlichen Applikationsformen, welche durch Kombination mit anderen Stoffen nicht direkt in Kontakt zu den Schleimhäuten treten. Nach Oetzel (1993) ist hierbei die Inzidenz von Milchfieber und Labmagenverlagerungen deutlich geringer.

Alle Calciumchloridprodukte senken den pH-Wert des Blutes. Geringgradige pH-Wert Veränderungen wirken sich günstig auf die Erkrankungsrate aus, da der Zusatz von Anionen alkalotische Zustände verhindert und die Zielgewebe für Parathormon empfindlicher sind (Goff et al., 1991a). Allerdings können große Mengen Calciumchlorid auch eine metabolische Azidose induzieren (Goff und Horst, 1993; 1994). Dies kann die ohnehin in diesem Zeitraum oft auftretende Inappetenz noch verstärken. Ebenso möglich ist die Verabreichung von Calciumpropionat. Dies wirkt zwar weniger schnell als Calciumchlorid, aber länger anhaltend (Goff und Horst, 1994). Calciumpropionat senkt nicht den pH-Wert des Blutes und stellt eine glucoplastische Substanz dar. Dies ist von Vorteil, da sich die Energiebilanz von Milchkühen im negativen Bereich befindet. Allerdings enthält Calciumpropionat nur 21,5 % Calcium, so dass größere Mengen notwendig sind.

Um Auswirkungen auf den Blutcalciumspiegel zu erzielen ist aber nicht nur die verabreichte Menge entscheidend, sondern hauptsächlich der Charakter des Calciumsalzes (Fürll und Oetzel, 2001; Horst et al., 2005) und der Trägerstoff an den das jeweilige Calciumsalz gebunden ist (Goff und Horst, 1994). Eine Studie, in der verschiedene Calciumpräparate vergleichend eingesetzt wurden, ergab Folgendes: Calciumchlorid in Verbindung mit Calciumsulfat (gesamt: 172 g Calcium) führte zu einem signifikanten Anstieg des ionisierten Calcium im Blut im Vergleich zu Präparaten mit Calciumacetat und Calciumpropionat. Außerdem hatte dieses Präparat einen säuernden Effekt auf den Säure-Basen-Status in Blut und Harn, im Gegensatz zu den Präparaten, die Calciumpropionat bzw. Calciumacetat enthalten. Applikationsbedingte Nebenwirkungen traten bei keinem der Präparate auf. Lediglich die Applikation von Calciumchlorid/Calciumsulfat führte zu einem

vorübergehenden Anstieg der Pulsfrequenz, um die azidogene Wirkung zu kompensieren (Fürll und Körner, 2006).

Allerdings sind bei dieser Prophylaxemöglichkeit verschiedene Punkte zu beachten:

Die orale Calciumzufuhr sollte unmittelbar vor und nach der Geburt erfolgen, d.h. es handelt sich um eine arbeitsaufwendige und auch kostenintensive Maßnahme. Außerdem sollten keine ungeschützten Calciumchlorid-Präparate verwendet werden, da Calciumchlorid sehr schleimhautreizend wirkt und die Entzündungen im oberen Verdauungstrakt und Pansen zu Reduzierung der Futteraufnahme führen können (Staufenbiel und Engelhard, 1999).

2.1.8.3 Einsatz von Zeolite

Neuere Untersuchungen ergaben, dass durch den Einsatz von Zeolite in hohen Dosierungen (100 g/kg TS TMR) eine erfolgreiche Milchfieberprophylaxe durchgeführt werden kann. Bei Zeolite handelt es sich um ein Natriumaluminiumsilikat, das während der Trockenstehphase verabreicht wird. Dadurch wird die Verfügbarkeit von Calcium herabgesetzt und somit calciumarme Rationen erreicht. Durch dieses Verfahren wird der Calciumspiegel im peripartalen Zeitraum aufrechterhalten. In verschiedenen Studien war ein Absinken des Magnesiumspiegels und ein erniedrigter Phosphatspiegel zu beobachten. Etwa eine Woche vor dem erwarteten Geburtstermin konnte ein Anstieg von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ beobachtet werden. Allerdings nahm die Futteraufnahme mit fortschreitender Trächtigkeitsdauer ab. Es war keine Beeinflussung von Milchleistung, Fett- und Eiweißgehalt der Milch in der nachfolgenden Laktation zu beobachten. Zeolite wurde in Dosierungen zwischen 0,5 kg und 1 kg pro Tag eingesetzt. Mit der Fütterung wurde vier bzw. zwei Wochen vor dem erwarteten Geburtstermin begonnen, wobei die Fütterung vier Wochen ante partum keine zusätzlichen Effekte ergab (Thilsing-Hansen et al., 2002; Thilsing-Hansen et al., 2003; Grabherr et al., 2006).

In einer Folgeuntersuchung wurden verschiedene Dosierungen erprobt, bei welchen die Futtermittelaufnahme möglichst wenig beeinträchtigt war, die peripartale Hypocalcämie jedoch verhindert wurde. Diese ergab eine maximale Dosis von 24 g Zeolite/kg TS. Der Prophylaxebeginn sollte etwa zwei Wochen vor der Kalbung sein (Grabherr et al., 2007).

2.1.8.4 Sonstige Maßnahmen

Folgende Maßnahmen werden in der Praxis zur Zeit nicht eingesetzt, sollen aber erwähnt werden, da es sich bei dem Dexamethason-Abkömmling Asistar® um ein lange Zeit in der Praxis eingesetztes Verfahren handelt und die Prophylaxe mit Parathormon bei weiterer Entwicklung ein denkbare Verfahren für die Zukunft darstellt.

Prophylaxe mit Kortikosteroid-Präparaten

Bei dem Präparat Asistar® (Firma Boehringer Ingelheim) handelt es sich um einen Dexamethason-Abkömmling, der von Salomon (1973) erprobt wurde. Bei termingerechter Verabreichung (3. bis 13. Tag a.p.) konnte die Milchfieberinzidenz erheblich gesenkt werden. Salomon gibt eine Erfolgsquote von bis zu 87 % an. Retentio secundinarum und eine geburtsauslösende Wirkung konnte von Salomon nicht beobachtet werden. Auch Signorini (1974) machte positive Erfahrungen mit diesem Präparat. Die Zulassung des Präparates wurde im Zuge der Nachzulassungen aus Kostengründen von der Firma Boehringer Ingelheim nicht weiter betrieben, so dass es seit wenigen Jahren nicht mehr eingesetzt werden kann.

Einsatz von Parathormon

Verschiedene Untersuchungen haben die Wirksamkeit von parenteralen Gaben von Parathormon im Einsatz gegen Milchfieber nachgewiesen. Sowohl die intravenöse Injektion drei Tage ante partum (Goff et al., 1986b) als auch die intramuskuläre Applikation (Goff et al., 1989b) konnte das

Auftreten von Gebärpause verhindern und eine normale Calciumkonzentration im Plasma aufrechterhalten. Allerdings ist die synthetische Herstellung von Parathormon schwierig und sehr kostenintensiv, so dass die Anwendung in der Praxis derzeit nicht stattfindet (Wang et al., 1994).

2.1.8.5 Vitamin D und dessen Metaboliten

Vitamin D

Bereits 1924 erkannten Steenbock und Black, dass Vitamin D eine entscheidende Rolle bei der intestinalen Calciumabsorption spielt. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden verschiedene Verfahren zur Prophylaxe bei Hypocalcämie erprobt. Hibbs und Pouden verführten im Jahr 1955 täglich 20-30 Mio. I E (pro Kuh) drei bis fünf Tage vor der Geburt bis max. sieben Tage nach der Geburt. Damit konnte die Inzidenz von Milchfieber um 70 bis 80 % gesenkt werden. Seekles et al. (1958) führten Studien durch, bei denen 10 Mio. IE kristallines Vitamin D₃ zwei bis drei Tage a. p. intravenös verabreicht wurde. Wenn die Kuh nicht innerhalb einer Woche kalbte, wurde die gleiche Menge noch einmal appliziert. Die Gebärpauseinzidenz konnte bei den Tieren um 80 % gesenkt werden, vorausgesetzt die Injektion lag zwei bis acht Tage vor der Geburt. Allerdings provozierte die intravenöse Gabe teilweise Schocksymptome, so dass vermehrt die intramuskuläre Injektion durchgeführt wird.

Bei Gabe dieser hohen Dosen von Vitamin D, welche für eine wirksame Prophylaxe nötig sind, besteht jedoch die Gefahr von Verkalkungen im Weichteilgewebe. Außerdem ist diese Methode nur in einem bestimmten Zeitraum (Applikationsbeginn: 72 bis 48 Stunden a. p.) effektiv.

25- Hydroxycholecalciferol (25(OH)D₃)

1971 wurden von Bringe et al. Versuche durchgeführt, bei denen die Probanden Kapseln mit 250 µg 25(OH)D₃ mindestens 18 Stunden a. p. oral erhielten. Im Bedarfsfall wurden diese Gaben alle drei Tage wiederholt. Auch durch intravenöse Gaben von 200 µg dieser Substanz 24 bis 72 Stunden a.p. konnte die Milchfieberinzidenz gesenkt werden (Bringe et al., 1971). Im Jahr 1973 wurden 4,0 bzw. 8,0 mg 25(OH)D₃ in 5,0 ml Sesamöl den Tieren i.m. appliziert. Bei den Tieren die drei bis zehn Tage später abkalbten, trat kein Gebärparesefall auf (Olson et al., 1973). Nach Untersuchungen von Jorgensen et al. (1978) ist die kurzzeitige Verabreichung von empfohlenen Dosen dieser Substanz für die behandelten Tiere sicher und der Verzehr von Produkten dieser behandelten Tiere kann als unbedenklich angesehen werden. Die subkutane Verabreichung von 2,0 mg 25(OH)D₃ in 5,0 ml Sesamöl bewirkte aufgrund der schlechten Ölabsorption keine bzw. nur eine geringe Reduktion der Gebärparese-Inzidenz. Dies bedeutet, dass 25(OH)D₃ unbedingt intramuskulär verabreicht werden muss (Olson et al., 1973).

1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)₂D₃)

Hoffsis et al. (1978) konnten mit einer intravenösen Gabe von 600 µg 1,25(OH)₂D₃ den peripartalen Abfall des Calcium- und Phosphatspiegels im Blut verhindern. Der geplante Applikationszeitpunkt war 24 h a. p. Wenn die Tiere nicht in diesem Zeitraum abkalbten, wurde in zwei bis drei-tägigem Abstand 270 µg nachdosiert.

Auch Gast et al. (1979) konnte mit 1,25-(OH)₂D₃ eine erfolgreiche Milchfieberprophylaxe durchführen. 400 µg dieser Substanz wurden 5 Tage vor der erwarteten Geburt intramuskulär injiziert. Dies wurde bis zur tatsächlichen Abkalbung in fünftägigem Abstand wiederholt.

Hove und Kristiansen (1982) hatten mit der oralen Gabe von 500 µg 1,25(OH)₂D₃ nur dann Erfolg, wenn die Behandlung zwischen 24 und 72 h a.p. erfolgte.

Yamagishi et al. (2005) untersuchten die prophylaktische Wirkung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol in Verbindung mit einer Injektion von PGF_{2α} zur Geburtseinleitung. Der Calciumanstieg bei den behandelten Kühen war im peripartalen Zeitraum signifikant höher als bei den Kontrolltieren.

1α-Hydroxycholecalciferol (1α-OHD₃)

1α-Hydroxycholecalciferol stellt das synthetische Analogon zu 1,25(OH)₂D₃ dar. In zahlreichen Untersuchungen wurde der prophylaktische Effekt dieses Steroids erprobt. Dosierungen von 70 bis 700 µg 1α-OHD₃ wurden entweder einmalig oder wiederholt injiziert. Allerdings konnte wie bei 1,25(OH)₂D₃ nur ein wirksamer Schutz erzielt werden, wenn die Geburt zwischen 1 bis 7 Tage nach der Behandlung erfolgte, wobei der optimale Zeitpunkt bei 24 bis 72 Stunden a. p. liegt. (Sachs et al., 1977; Wittwer und Ford, 1978; Davies et al., 1978; Bar et al., 1980; Vagg et al., 1981; Manston et al., 1981; Sachs et al., 1987; Güthle, 1991; u.a.)

Fluorierte Vitamin D-Metaboliten (24F- 1,25-(OH)₂D₃)

Durch die Fluorierung von Vitamin D-Metaboliten am C-Atom 24 soll die 24-Hydroxylierung blockiert werden und der Inaktivierung von 1,25(OH)₂D₃ entgegengewirkt werden. Dabei kommt es zu einer Verlängerung der biologischen Halbwertszeit (Tanaka et al., 1983). Verschiedene Untersuchungen wurden mit fluorierten Vitamin D– Metaboliten durchgeführt. Durch die intramuskuläre Injektion von 400 µg 24-F-1,25-(OH)₂D₃ bzw. 100 µg 24,24F₂-1,25(OH)₂D₃ wurde die Nierenfunktion von nicht-trächtigen Jersey-Kühen beeinträchtigt. Die glomeruläre Filtrationsrate sank und der Creatininspiegel im Blut war stark erhöht.

In einem Folgeversuch wurde deshalb 24F-1,25-(OH)₂D₃ in Dosierungen von 100 µg und 150 µg angewendet. Diese Substanz sollte zwischen einem und sechs Tagen a.p. verabreicht werden und gegebenenfalls alle 7 Tage bis zur Kalbung wiederholt werden. (Goff et al., 1988). Goff und Horst zeigten im Jahr 1990 eine Reduktion der Milchfieber-Inzidenz von 80% auf 9 %, indem ein kontinuierlich 24F-1,25-(OH)₂D₃ freisetzendes Implantat subcutan

deponiert wurde. So konnte auch der Eingriff in die körpereigene Regulation des Vitamin D₃ - Stoffwechsels etwas abgeschwächt werden.

Kalzinogene Pflanzen

Verschiedene Pflanzen enthalten neben Vitamin D₃ auch dessen Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol. In mehreren Untersuchungen wurde deren Eignung zur Prophylaxe der Gebärpause geprüft. Dies soll unter **2.3.3** näher ausgeführt werden.

Der prophylaktische Einsatz von Vitamin D und seinen Metaboliten findet aufgrund einiger Schwierigkeiten, welche damit verbunden sind, nur begrenzt statt.

Die Wirkung tritt erst einige Zeit nach der Verabreichung ein, so dass die Bestimmung des Geburtszeitpunktes sehr wichtig ist. Diese ist aufgrund individueller Unterschiede im zeitlichen Auftreten von Geburtsanzeichen sehr schwierig, so dass die Verabreichung oft nicht innerhalb des für die jeweilige Substanz vorgegebenen Zeitfensters erfolgen kann. Dementsprechend sind dann wiederholte Applikationen nötig, wobei zu beachten ist, dass die toxischen Grenzen nicht überschritten werden. Umgekehrt besteht die Möglichkeit, dass die Wirkung wegen zu geringem Wirkstoffspiegel nicht optimal ist und die Hypocalcämie nicht verhindert werden kann.

2.2 Der Wirkstoff Vitamin D

2.2.1 Bildung, Wirkung und Metabolisierung im Organismus

Die Vitamin D- Versorgung von Menschen und Tieren kann entweder durch Eigensynthese des Organismus oder durch Aufnahme von Vitamin D mit der Nahrung erfolgen.

Grundsätzlich ist die Hauptquelle für die Vitamin D- Versorgung die Produktion in der Haut durch die Wirkung von UV-Licht (Holick, 2002). Allerdings ist hierbei zu beachten, dass es limitierende Faktoren gibt, welche

die Vitamin D₃-Synthese begrenzen. So limitiert die Stallhaltung bei intensiv genutzten Landwirtschaftstieren die körpereigene Synthese, da die UV-Strahlung oft nicht ausreichend ist. Deshalb müssen zur Gesunderhaltung und Leistungsbereitschaft besonders Rindern und Geflügel Vitamin D₃ über das Futter zugeführt werden.

Bei Hund und Katze ist eine Überaktivität des Enzyms 7-Dehydrocholesterol-Reduktase dafür verantwortlich, dass diese beiden Spezies kein körpereigenes Vitamin D₃ synthetisieren können. (Morris, 1997). Nach Edwards (2000) haben diese Tiere aufgrund ihrer calciumreichen Nahrung einige physiologische Mechanismen in der Calcium-Homöostase verloren, so dass sie auf ausreichend Vitamin D in der Nahrung angewiesen sind.

Synthese

Aus Cholesterin wird auf enzymatischem Weg unter Einwirkung von UV-Licht in der Haut das 7-Dehydrocholesterin synthetisiert. In Leber und Niere müssen Metabolisierungsprozesse stattfinden, damit das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D₃ bzw. das in der Haut synthetisierte im Organismus wirken kann.

Auf dem Blutweg gelangt das Vitamin D₃ zur Leber. Hierzu ist es an ein Vitamin D- bindendes Protein (DBP) gebunden. In der ersten Metabolisierungsphase findet die Bildung von 25-Hydroxyvitamin D₃ (25(OH)D₃) statt. Dafür ist das Enzym 25-Hydroxylase verantwortlich, das sich unter anderem in den Mikrosomen der Hepatozyten befindet (Jones et al., 1998).

An DBP gebunden findet der Transport mit dem Blutstrom von der Leber zur Niere statt. Hier wird 25 (OH) Vitamin D durch zwei mitochondriale Enzyme, die 25(OH)D-1 α -Hydroxylase (1-Hydroxylase) und die 25(OH)D- 24-Hydroxylase (24-Hydroxylase), zu 1,25(OH)₂- Vitamin D bzw. 24,25 (OH)₂ Vitamin D metabolisiert.

Die Hauptregulatoren dieser enzymatischen Umsetzungen sind der Serumcalcium- und Serumphosphatspiegel sowie das Parathormon. Eine Hypocalcämie führt über die Ausschüttung von Parathormon (Kremer und Goltzman, 1982) und eine Hypophosphatämie wahrscheinlich direkt (Baxter

und DeLuca, 1976; DeLuca und Ghazarian, 1980) zu einer Aktivitätssteigerung der renalen 1α -Hydroxylase.

Eine Überproduktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird durch eine Produkthemmung des Enzyms verhindert.

In hohen Konzentrationen führt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zur Aktivierung der 24 -Hydroxylase (DeLuca, 1981). Aus $25(\text{OH})\text{D}_3$ entsteht dann $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ein weiterer Vitamin D – Metabolit. Seine physiologische Rolle ist bis heute stark umstritten, allerdings wurde ihm in Kombination mit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine synergistische Rolle nachgewiesen (Rambeck und Zucker, 1985b).

Aber auch in anderen Organen sind Hydroxylierungskapazitäten vorhanden. So konnte auch in Lunge, Darm und Niere eine 25 -Hydroxylaseaktivität nachgewiesen werden (Tucker et al., 1973). Ebenso ist beim Menschen im Colon (Cross et al., 2001), in Osteoblasten, in der Haut (Holick, 2002) und in der Plazenta eine 1α -Hydroxylaseaktivität nachweisbar.

Die Wirkung von hormonell aktivem Vitamin D_3 wird vom Vitamin D-Rezeptor (VDR) vermittelt. Dieser Rezeptor hat ein Molekulargewicht von 60-70 Kilodalton und bindet $1,25$ -Dihydroxycholecalciferol mit einer höheren Spezifität als andere Metaboliten (Pike, 1985). Umgekehrt dazu verhält sich die Spezifität des Serumproteins, welches $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ fester bindet als $1,25$ -Dihydroxycholecalciferol. Daher kann $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ von den intrazellulären Rezeptoren in den Vitamin D-Zielzellen zurückgehalten und konzentriert werden (Manolagas und Deftos, 1981).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird an den VDR gebunden und gelangt so in den Zellkern der jeweiligen Zielzelle. Dort knüpft die DNA-bindende Domäne an die Promotorregion des chromosomalen DNA-Stranges an (Norman et al., 1992).

Der Mechanismus, mit dem das Vitamin-D-Hormon die Calcium-Homöostase regelt, scheint dem der Glucocorticoide und der klassischen Steroidhormone ähnlich zu sein. (Fraser, 1995). Durch den Komplex mit dem Rezeptor wird die Transkription spezifischer messenger-RNA gestartet, die den Code für spezielle Proteine tragen und dann von der Zelle synthetisiert werden. Diese Regulation der genetischen Transkription ist für über 60 Gene beschrieben (Minghetti und Norman, 1988), die in die Calcium- und Phosphor-Homöostase eingreifen.

Eine gut untersuchte Genregulation ist z.B. die Expression von Calbindin (CaBP), dem Vitamin D induziertem Protein zur Calciumbindung (Minghetti et al., 1988). Hauptsächlich im Darm und in den Nieren entfaltet das Calbindin seine Wirkung. Als Transportmittel für Calcium gelangt es durch die Zellen hindurch zur Basolateralmembran und wird dann mittels einer Calciumpumpe aktiv ausgeschleust (Christakos et al., 2003).

Calbindin ist auch für die Insulinfreisetzung aus den Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas verantwortlich (Sooy et al., 1999). Außerdem dient Calbindin als Schutz vor apoptotischem Zelltod durch die Pufferung des intrazellulären Calciums (Guo et al., 1998).

Neben dem VDR-vermittelten Weg, kann 1,25-Dihydroxycholecalciferol auch Reaktionen auf dem nicht-genomischen Weg auslösen. Diese Wirkungen auf physiologischer Basis werden auch als „rapid responses“ bezeichnet. Die „rapid responses“ sind bereits nach wenigen Sekunden bis Minuten messbar, während die Zellantwort auf genomischem Weg frühestens nach 60 Minuten erfolgt (Norman et al., 1992).

Die direkte Stimulation der Calciumaufnahme aus dem Darm, auch als „Transcaltachia“ bezeichnet, ist eine der „rapid responses“, die gut untersucht wurden (Nemere und Norman, 1988). Die Bindung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol an membranständige Rezeptoren führt zur Aktivierung von Second-messenger-Botenstoffen, welche die Regulation von Zellfunktionen vermitteln (Norman et al., 1999).

Ebenso gehört die Aktivierung der Calcium-Kanäle in der Darmwand zu den „rapid responses“, die zu einer gesteigerten Calciumabsorption aus der Nahrung führen.

2.2.2 Calcium- und Phosphor– Homöostase

Die Calcium- und Phosphor–Homöostase ist im Blut streng reguliert. Die Hauptzielorgane im Calcium- und Phosphorstoffwechsel sind Darm, Nieren und Knochen. In Darm und Nieren werden Calcium und Phosphor aufgenommen bzw. rückresorbiert, und im Knochen können diese Mineralien gespeichert und bei Bedarf auch wieder mobilisiert werden.

Calcitonin, Parathormon und Calcitriol (1,25-Dihydroxycholecalciferol) übernehmen die hormonelle Steuerung dieser Vorgänge.

Parathormon (PTH)

Parathormon wird in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse gebildet. Die Hauptfunktion von PTH besteht darin, den Serumcalciumspiegel zu erhöhen. Demzufolge führt ein Absinken des Calciumspiegels im Serum zu einer Erhöhung der PTH- Sekretion. In der Niere führt Parathormon zur Bildung des Enzyms 1 α -Hydroxylase, wobei gleichzeitig die 24-Hydroxylase gehemmt wird. Dies führt zu einer gesteigerten Bildung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol sowie einer verminderten Bildung von 24,25(OH)₂D₃. Parathormon verhält sich also umgekehrt proportional zu Calcitriol, welches die 24-Hydroxylase induziert und die 1 α - Hydroxylase hemmt und somit seine eigene Inaktivierung auslöst (Zierold et al., 2003).

Außerdem führt PTH in der Niere zu einer Hemmung der Phosphat-Rückresorption im proximalen Tubulus und zu einer Steigerung der Calcium-Resorption im distalen Tubulus. Es kommt somit zu einem Absinken des Phosphatspiegels im Serum, da mehr Phosphat mit dem Urin ausgeschieden wird.

Calcitonin

Calcitonin wird in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet und senkt als direkter Antagonist des Parathormons den Blutcalciumspiegel.

Calcitonin verringert die Aktivität der Osteoklasten und hemmt somit die Calciummobilisation aus dem Knochen. Außerdem bewirkt es den vermehrten Einbau von Calcium und Phosphat im Knochen. In der Niere wird die Calcium-Ausscheidung mit dem Urin erhöht.

Die Calcitoninfreisetzung wird durch eine Hypercalcämie, aber auch durch Pentagastrin, ein gastrointestinales Hormon, angeregt.

Calcitriol (1,25-Dihydroxycholecalciferol)

Sinkende Calcium- und Phosphatspiegel sowie Wachstums- und Sexualhormone stimulieren die Bildung von Calcitriol. 1,25-Dihydroxycholecalciferol hemmt die Bildung von Parathormon und die 1α -Hydroxylase in der Niere (Zierold et. al., 2003). Somit wird die Entstehung einer Hypercalcämie vermieden. Wenn eine ausreichende Menge Calcitriol im Serum vorhanden ist, wird in der Niere die Bildung der 24-Hydroxylase aktiviert und das $25(\text{OH})\text{D}_3$ wird zu $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hydroxyliert. Calcitriol kann mit diesem Feed-back-Mechanismus seine eigene Bildung regulieren. (Jones et. al., 1998)

Im Folgenden sollen die Mechanismen der Calcium- und Phosphorhomöostase übersichtsweise dargestellt werden.

2.2.2.1 Calciumresorption aus dem Darm

Im Duodenum und im Jejunum findet ein aktiver transzellulärer Transportprozess statt, über die gesamte Länge des Darmes erstreckt sich ein passiver, parazellulärer Calciumtransport (Bronner et. al., 1986).

Aktiver Calciumtransport

Beim aktiven Calciumtransport vom Darmlumen durch die Zellen der Darmwand kann man drei Phasen unterscheiden.

-
- Passiver Eintritt von Calcium in die Zellen des Bürstensaumes (Bouillon et al., 2003). 1,25 Dihydroxycholecalciferol steigert die Bildung von epithelialen Calcium-Kanälen. Diese membranständigen Kanäle befinden sich an der luminalen Darmseite und sorgen für einen unbeschränkten Calcium- Einstrom in das Zellinnere (Hoenderop et al., 1999).
 - Calciumtransport innerhalb der Zellen (Bouillon et al., 2003). Dieser erfolgt gebunden an Calbindin. Calbindin wirkt in der Zelle für die Calciumionen zusätzlich als Puffer als Schutz vor apoptotischem Zelltod (Guo et al., 1998) und beschleunigt deren Ausstoß aus der Zelle durch Stimulierung der Calcium-ATPase. Der direkte Einfluss von 1,25(OH)₂D₃ auf die Produktion von Calbindin wurde bereits unter 2.2.2. näher erläutert (Christakos et al., 1992).
 - Der Ausstoß von Calcium erfolgt auf der serosalen Seite des Darms in den Blutstrom. (Bouillon et al., 2003). Dieser Vorgang wird mit Hilfe der Plasmamembran-Calcium-ATPase (PMCA) oder über eine Na-/Ca-Ionenpumpe (NCX) durchgeführt. Allerdings lässt sich die Na-/Ca-Ionenpumpe nicht durch 1,25 Dihydroxycholecalciferol beeinflussen.

Dieser Transportweg ist schon bei geringen Calciumkonzentrationen im Darmlumen gesättigt. In Zeiten von vermehrtem Calciumbedarf kann dieser Mechanismus hochreguliert werden und bei erhöhtem Calciumangebot in der Nahrung kann der aktive Calciumtransport gedrosselt werden, da dann der passive Calciumtransport überwiegt. Diese Vorgänge werden durch Vitamin D₃ gesteuert. (Slepchenko und Bronner, 2001).

Da sich der transzelluläre Calciumtransport direkt proportional zum Gehalt an Calbindin verhält, kann Calbindin als limitierender Faktor angesehen werden (Bronner, 2003).

Passiver Calciumtransport

Der passive Transport erfolgt entlang eines Konzentrationsgefälles und hängt dementsprechend vom Calciumgehalt in der Nahrung und von der Verweildauer des Chymus im jeweiligen Darmabschnitt ab. Bronner und

Pansu (1999) ermittelten das Ileum als Darmabschnitt mit der längsten Verweildauer des Nahrungsbreies. Dort war auch die Calciumresorption am größten.

Beim passiven Calciumtransport ist der Calciumgehalt in der Nahrung der alleinige limitierende Faktor. Nur bei normalem bis hohem Calciumgehalt genügt das Konzentrationsgefälle für eine Aufnahme.

Andernfalls läuft die Resorption über den energieabhängigen, transzellulären Mechanismus ab (Pansu et al., 1993).

2.2.2.2 Calciumresorption in der Niere

In der Niere wird der Calcium- und Phosphathaushalt durch das Zusammenspiel von Parathormon und 1,25-Dihydroxycholecalciferol reguliert.

Das PTH bewirkt in der Niere eine Phosphatdiurese, während $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu einer gesteigerten Resorption von Phosphat aus dem Primärfiltrat führt. Durch dieses Zusammenspiel wird der Phosphatspiegel im Serum konstant gehalten (DeLuca, 1974).

Desweiteren kommt es durch die Wechselwirkung dieser beiden Hormone zu einer verstärkten Calcium-Reabsorption aus dem glomerulären Filtrat. Diese Vorgänge finden in den distalen Nierentubuli und in den Sammelrohren statt, wo spezielle Transportmechanismen vorhanden sind (Craviso et al., 1987).

Parathormon regt die Bildung der 1α -Hydroxylase an, sodass 1,25-Dihydroxycholecalciferol gebildet wird (Lawson und Davie, 1979).

Desweiteren wird die Stabilität der 24 -Hydroxylase-mRNA stark vermindert. Dies führt zu einer vermehrten Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aus $25(\text{OH})\text{D}_3$ statt zur Bildung von $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. (Zierold et al., 2003).

Wenn ein hoher Gehalt an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vorliegt, wird über einen Feedback-Mechanismus seine weitere Bildung durch Hemmung der renalen 1α -Hydroxylase eingeschränkt. Stattdessen werden vermehrt 24 -hydroxylierte Metaboliten gebildet. (Hausler, 1986).

2.2.2.3 Einfluss von Vitamin D auf den Knochenstoffwechsel

Das Knochengewebe setzt sich aus der Organischen Matrix, den Knochenmineralien und den Knochenzellen zusammen. Die Organische Matrix, auch als Osteoid bezeichnet, besteht zu 90 % aus Kollagen Typ I und zu 10 % aus anderen Proteinen. Bei den Knochenmineralien handelt es sich hauptsächlich um Calcium und Phosphor, und bei den Knochenzellen unterscheidet man zwischen Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten (Watts, 1999).

Osteoblasten formen die Grundsubstanz beim Knochenaufbau, Osteoklasten sind für dessen Resorption verantwortlich. Um die Knochenmasse konstant zu halten, müssen diese Vorgänge gut aufeinander abgestimmt sein (Martin, 1993).

Die Osteoblasten stammen aus dem Mesenchym und besitzen Rezeptoren für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Nijweide et al., 1986). 1,25-Dihydroxycholecalciferol wirkt sich direkt auf die Proliferation, Differenzierung und Proteinsynthese der Osteoblasten aus (Kanis et al., 1988). Die Aufgaben der Osteoblasten bestehen in der Osteoidproduktion und in der Osteocalcinproduktion. Bei Osteocalcin handelt es sich um ein Calcium-Transportprotein, welches für die Überführung von Calciumionen aus dem Blutplasma in den Verkalkungsbereich der Knochen von Bedeutung ist. Durch 1,25-Dihydroxycholecalciferol kann die Osteocalcinproduktion der Osteoblasten gesteigert werden (Erben et al., 1997; Price und Baukol, 1981; Markowitz et al., 1987).

Außerdem übt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einen positiven Effekt auf die Chondrozyten aus. Chondrozyten in der Wachstumsfuge weisen dafür spezifische Rezeptoren aus und somit kann eine schnelle Aktivierung der Proteinkinase C vermittelt werden, die eine zentrale Rolle bei der Regulierung des zellulären Wachstums besitzt (Pedrozo et al., 1999).

Aber auch im Knochenabbau ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ von Bedeutung.

An parathyreoidektomierten Ratten konnte gezeigt werden, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die resorptiv tätigen Osteoklasten stimuliert (Holtrop et al., 1981). Die Osteoklasten entwickeln sich aus hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks (Buring, 1975). Nur in Anwesenheit von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und

mit direktem Kontakt zu Osteoblasten können die Präosteoklasten zu den Osteoklasten fusionieren (Suda et al., 1992).

1,25(OH)₂D₃ induziert die Osteoklastenformation. Parathormon, Prostaglandin E₂ und Vertreter der Interleukinfamilie sind weitere Faktoren, welche die Knochenresorption fördern (Suda et al., 1992).

Über diese verschiedenen Wege wird in Osteoblasten die Bildung eines Osteoklasten-Aktivierungsfaktors (ODF) angeregt, der auf ihrer Plasmamembran präsentiert wird (Suda et al., 1992). Versuche zeigten, dass aus diesen Gründen eine Differenzierung zu reifen Osteoklasten nur erfolgen kann, wenn Zellkontakt von Osteoklastenvorstufen zu ODF-tragenden Osteoblasten besteht. Die Zielzellen der Faktoren, welche die Knochenresorption fördern sind also die Osteoblasten und nicht die Osteoklastenvorstufen.

In vivo hat 1,25-Dihydroxycholecalciferol die Funktion eines „bone-mobilizing hormone“, in vitro kann es auch ein „bone-forming hormone“ sein (Suda et al., 2003). Hierbei hängt es stark von seiner Konzentration ab. Nur aufgrund von pharmakologischen Überdosierungen oder fehlregulierten Mechanismen kann in vivo Knochenresorption stattfinden (Suda et al., 2003). In physiologischen Konzentrationen verhindert 1,25(OH)₂D₃ in vivo die Knochenresorption durch Unterdrückung der Parathormon induzierten mRNA-Synthese und nachfolgender Osteoklastenaktivierung (Endo et al., 2000).

Nach Merke et al. (1986) besitzen Osteoklasten keine Rezeptoren für 1,25(OH)₂D₃. 1,25-Dihydroxycholecalciferol führt nicht zu einer Steigerung der Osteoklastenaktivität, sondern nur zu einer Erhöhung der Osteoklastenanzahl. Parathormon bewirkt eine Stimulierung der knochenabbauenden Zellen und des Wachstums und der Differenzierung von Osteoblasten bzw. deren Vorläuferzellen (Mayer et al., 1992).

1,25(OH)₂D₃ unterdrückt die Knochenresorption und erhält die Knochenformation aufrecht. Östrogen dagegen behindert beide Prozesse (Shibata et al., 2002). Untersuchungen mit Östrogen und 1,25(OH)₂D₃ bewiesen, dass der Pool der Osteoklastenvorläuferzellen im Knochenmark stark reduziert war, sodass 1,25 Dihydroxycholecalciferol bei der Behandlung der östrogenabhängigen Osteoporose eingesetzt werden kann. Außerdem

werden in Osteoblasten die Synthese verschiedener Proteine durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ angeregt. Die Aufgaben dieser Proteine sind Zelladhäsion und Matrixverkalkung (Avioli, 1999).

2.2.3 Weitere Wirkungen von Vitamin D₃

Bis Ende der 70er Jahre des 20. Jahrhunderts beschränkten sich die Kenntnisse über die Vitamin D₃-Wirkung auf die Calcium- und Phosphor-Homöostase. Stumpf et al. (1979) machten schließlich die Entdeckung, dass sich radioaktiv markiertes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ neben den klassischen Zielorganen (Darm, Niere, Knochen) auch in den Inselzellen des Pankreas, in den Keratinozyten, im Brustdrüsen- und Ovargewebe, in Epithelzellen des Nebenhodens, in manchen Nerven, in Promyelozyten, Makrophagen und T-Lymphozyten anreicherte. Konsequenterweise wurden die Vitamin D-Rezeptoren in diesen Organen aufgefunden, so dass der Anstoß zu weiteren Untersuchungen gegeben war.

Wirkung auf Keratinozyten

Basierend auf den Erkenntnissen von Stumpf et al. (1979), gelang es Smith et al. (1986) zu beweisen, dass sich nicht nur $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in den Keratinozyten findet, sondern auch die entsprechenden Rezeptoren (VDR). Dadurch sind Keratinozyten befähigt, ihr Wachstum einzuschränken und ihre Alterung zu beschleunigen. Daraus resultierte die Überlegung, den aktiven Vitamin D-Metaboliten bei Psoriasis- einer hyperproliferativen Hauterkrankung-therapeutisch einzusetzen (MacLaughlin et al., 1985).

Antiproliferative Wirkung

Hanchette und Schwartz (1992) beobachteten, dass für Menschen, die in nördlichen Breitengraden leben und damit einer geringeren UV-Licht-Bestrahlung ausgesetzt sind, ein höheres Risiko besteht, an Prostatakrebs zu erkranken. Daraus zog Holick (2002) die Schlussfolgerung, dass das

Zellwachstum durch die lokale $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Produktion reguliert wird und somit das Risiko einer Entartung reduziert.

Prostatazelllinien sind fähig mittels der $1\text{-}\alpha\text{-}25\text{-Hydroxylase}$ aktives $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu synthetisieren. Dies führt zu einer Herabsetzung der Invasivität humaner Prostata-Krebszellen (Schwartz et al., 1998).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stoppt den Zellteilungszyklus in der G_0 - bzw. G_1 -Phase, wodurch unkontrollierte Tumorzellteilungen verhindert werden (Trump und Johnson, 2003). Außerdem kann durch eine Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration der apoptotische Zelltod eingeleitet werden. Dies könnte in der Therapie von Mammakarzinomen eingesetzt werden (Sergeev, 2004).

Wirkung auf das Renin-Angiotensin-System

Das Renin-Angiotensin ist wesentlich bei der Blutdruckregulation und der Elektrolyt- und Volumenhomöostase des Blutes beteiligt. Renin wird im juxtaglomerulären Apparat der Niere gebildet und spaltet von Angiotensinogen das Angiotensin I ab. Das ACE (angiotensin converting enzyme) formt Angiotensin I zum aktiven Angiotensin II um. Ein Blutdruckanstieg ist die Folge: die Blutgefäße werden kontrahiert, die glomeruläre Filtrationsrate der Niere steigt bei verminderter Natrium-Ausscheidung, die Aldosteron- und Adrenalinfreisetzung in der Nebenniere wird stimuliert und in der Hypophyse findet die Freisetzung von Vasopressin statt. Sekundär erzeugt Angiotensin II ein Durstgefühl.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wirkt als negativer Regulator auf die endokrine Genexpression von Renin. Es besteht also ein inverser Zusammenhang zwischen der Vitamin D-Konzentration im Blut und dem Blutdruck (Li et al., 2002).

Immunregulatorische Wirkung

Ebenso wie Monozyten besitzen auch B- und T-Lymphozyten Vitamin D-Rezeptoren. Diese Tatsache erklärt die Bedeutung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an der Immunmodulation (Manolagas et al., 1985). Das Vitamin D_3 -Hormon regt die Th_2 T-Helferzellen zur Produktion von Transforming-Growth-Factor- β_1 und

IL-4 an, welche die Synthese von TNF α und Interferon γ durch Th₁-Zellen unterdrücken. Durch diese beiden Zytokine wird eine kaskadenartige Immunreaktion ausgelöst.

Die Aktivierung von T-Helferzellen und zytotoxischen T-Zellen durch antigenpräsentierende Dendritische Zellen ist ein weiteres Stimulans zur Auslösung einer Immunantwort. 1,25(OH)₂D₃ führt über die Vitamin D-Rezeptoren zu einer Art Unreifezustand der Dendritischen Zellen (Griffin und Kumar, 2003). In verschiedenen Versuchen wurde das Vitamin D-Hormon bei autoimmunen Erkrankungen therapeutisch eingesetzt.

Autoimmune Enzephalitis (Lemire und Archer, 1991), rheumatoide Arthritis, durch Kollagen induzierte Arthritis (Cantorna et al., 1998), systemischer Lupus erythematodes sollen nur beispielhaft genannt werden.

Das aktive Vitamin D-Hormon wird als potentiell Therapeutikum bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen diskutiert, allerdings ist nach May et al. (2004) der Einsatz aufgrund der kalzifizierenden Eigenschaften noch nicht möglich.

Wirkung auf das zentrale Nervensystem

Im Nervensystem ist die Synthese von 1,25(OH)₂D₃ aus 25(OH)D₃ ebenso möglich wie in der Haut, der Mamma und der Prostata. Auch der anschließende Abbau kann dort stattfinden, was dem Vitamin auch hier auto- und paracrine Aktivitäten ermöglicht. Calcitriol wirkt vorgeburtlich auf die Gehirnentwicklung. Aus diesem Grund kann Vitamin D-Mangel zu diesem Zeitpunkt die spätere Entstehung von psychischen Störungen und das Auftreten von Verhaltensveränderungen begünstigen. Außerdem kann Vitamin D die Stimmungslage beeinflussen, weswegen Vitamin D-Mangel bei Erwachsenen zu vermehrtem Auftreten von Depressionen führt. Desweiteren hat Calcitriol im ZNS starke immunmodulatorische, neuroprotektive und neurotrophe Effekte, welche die Schwere vieler Erkrankungen, wie der multiplen Sklerose, von AIDS und anderen Infekten, Parkinson und der Alzheimer'schen Krankheit, und Verletzungen, wie den Folgen der Ischämie nach einem Schlaganfall verringern. Aufgrund all dieser Eigenschaften

reduziert eine optimale Vitamin D-Versorgung auch die altersbedingte Degeneration.

Allerdings ist zu beachten, dass Calcitriol seine Wirkung in den eben beschriebenen Bereichen nur voll entfalten kann, wenn der Serumspiegel von 25(OH)D₃ weit höher liegt, als für den Knochenstoffwechsel und die Calcium- Homöostase erforderlich ist (Kauer, 2006).

2.3 Kalzinose und kalzinogene Pflanzen

2.3.1 Kalzinogene Pflanzen

Diese Bezeichnung stellt einen Oberbegriff für eine Reihe von Pflanzen unterschiedlicher Herkunft dar. Sie rufen nach oraler Aufnahme bei verschiedenen Tieren Symptome hervor, die einer Vitamin D₃- Intoxikation ähneln. Das Vorkommen von 1,25(OH)₂D₃ stimuliert die Synthese von CaBP und die Absorption von Ca und P, welche dann letztendlich zu Hypercalcämie bzw. Hyperphosphatämie und zu Verkalkungen im Weichteilgewebe führen (Mello, 2003).

Mehrere Arten aus der Familie der Nachtschattengewächse rufen die unter **2.3.2.1** beschriebenen Symptome hervor: *Solanum glaucophyllum*, *Solanum torvum*, *Solanum esuriale*, *Solanum verbascifolium*, *Cestrum diurnum*, *Nierembergia veitchii*; Aber auch in den Blättern der Tomatenpflanze, welche auch zu den Solanaceen gehört, wurden Vitamin D-ähnliche Aktivitäten nachgewiesen (Prema und Rhaguramulu, 1996). Desweiteren wurden in Kartoffel-, Auberginen- und Zucchiniblätter (Aburjai et al., 1998) und in blaugrünem Tabak (Skliar et al., 2000) Vitamin D entdeckt.

Trisetum flavescens (Goldhafer) gehört zur Familie der Süßgräser und kann ähnliche Symptome hervorrufen.

Da bei den bisherigen Untersuchungen zur Milchfieberprophylaxe mit kalzinogenen Pflanzen ausschließlich *Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens* eingesetzt wurden, soll im Folgenden nur auf diese beiden Pflanzen näher eingegangen werden.

2.3.1.1 *Solanum glaucophyllum*



Abbildung 1 *Solanum glaucophyllum*

Solanum glaucophyllum, früher auch als *Solanum malacoxylon* Sendtner bezeichnet, gehört zur Familie der Solanaceae (Nachtschattengewächse) und ist vor allem in Südamerika beheimatet. Bei *Solanum glaucophyllum* handelt es sich um einen Strauch, dessen Zweige eine Höhe von 1,5 bis 3 m erreichen. Tonhaltige Böden in tiefergelegenen Landschaften werden bevorzugt. Diese Landschaften werden gelegentlich überflutet. *Solanum glaucophyllum* zeigt ein langsames,

extensives Wachstum und hat ein tiefreichendes Wurzelsystem. Darin ist auch seine Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen und physikalischen Bekämpfungsmaßnahmen begründet (Tokarnia et al., 2002).

Durch Verfütterung von *Solanum glaucophyllum*- Blättern konnten verschiedene biologische Effekte beobachtet werden. Diese wiesen auf die Anwesenheit von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hin (Corradino und Wasserman, 1971). Versuche mit Hühnern, deren 1α - Hydroxylase mittels Strontium inhibiert wurde, zeigten nach Verfütterung von *Solanum glaucophyllum* eine erhöhte Calcium-Absorption aus dem Darm. Diese kommt durch die Vitamin D-induzierte Neusynthese von Calbindin zustande (Wasserman, 1974).

Im Gegensatz zu Vitamin D_3 , welches ätherlöslich ist, ist der wirksame Extrakt dieses Metaboliten jedoch wasserlöslich. Dies kommt durch eine glycosidische Bindung zustande (Wasserman et al., 1976). Haussler et al. (1976) und Dirksen et al. (1981) konnten dieses bestätigen.

2.3.1.2 *Trisetum flavescens*



Abbildung 2 *Trisetum flavescens*

Trisetum flavescens gehört zur Familie der Süßgräser (Poaceae). Bevorzugt werden mäßig feuchte, kalk- und nährstoffreiche Böden in Höhenlagen ab etwa 700 m. Die weich-behaarten Blätter sind 4 mm breit, bei einer Aufwuchshöhe von 40 bis 80 cm. Die Rispe ist nur während der Blütezeit (Mai- Juni) ausgebreitet. Die Ähren an den verzweigten Rispenästen tragen jeweils zwei bis drei Grannen. Die goldgelbe Farbe der Ähren ist für die Bezeichnung Goldhafer (engl.: Golden Oat Grass) verantwortlich. (Für Veterinärpharmakologie und

Toxikologie, 2005).

In den Bergregionen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz ist Goldhafer für Weidetiere ein wertvolles Futtermittel. Allerdings ist es auch für die Entstehung von Kalzinosen verantwortlich (Dirksen, 1969; Dirksen et al., 1971; 1972, 1973, 1974, 1981; Waser et al., 1983).

Nach längerer Verfütterung an Rinder (etwa 5 Monate) waren bei einem Goldhaferanteil von 10% in der Gesamtration bereits erste Anzeichen dieser Krankheit zu beobachten (Simon, 1980).

Bei Schafen waren erst bei einem Goldhaferanteil von 30 bis 40% in der Gesamtration klinische Symptome der Kalzinose zu sehen. Allerdings ist beim Auftreten von Lahmheiten, steifem Gang und Entwicklungsstörungen bei einem Goldhaferbesatz von nur 5% der Weide auch bei Schafen differentialdiagnostisch Kalzinose in Betracht zu ziehen (Dirksen et al., 2003). Da *Trisetum flavescens* einerseits ein wertvolles Futtermittel ist, andererseits aber kalzinogene Wirkung aufweist, sind Untersuchungen über den Gehalt an Vitamin D- wirksamer Substanz und seine Verbreitung von großem Interesse.

So fand beispielsweise Pötsch (2001) heraus, dass die Wirksamkeit mit zunehmendem Alter der Pflanze nachlässt. Der Gehalt an Vitamin D-Metaboliten lässt sich durch Züchtung neuer Sorten und durch die Nutzungshäufigkeit der Weide beeinflussen (Schechter, 1976). So verringert sich der Goldhaferanteil von 25% auf 15% bei einer vierfachen Nutzung pro Jahr (Buchgraber und Pötsch, 1998).

In Österreich wurden zu Beginn der sechziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts erstmals bei Sektionsbefunden Verkalkungen unterschiedlicher Organe gefunden. (Dirksen, 1970). Nach verschiedenen Vermutungen über die Ätiologie dieser Krankheit gelang es Dirksen et al. (1972) durch verschiedene Fütterungsversuche *Trisetum flavescens* als verursachendes Agens zu ermitteln. Von denselben Autoren wurden im Jahr 1974 die unterschiedlichen calcinogenen Eigenschaften alter und junger Pflanzen erforscht. Die antirachitischen Eigenschaften wurden in vielen Studien bewiesen. Rambeck et al. (1981) zeigten, dass sich die krankheitsauslösenden Stoffe überwiegend in den Blättern nachweisen lassen. Rambeck und Zucker (1981) zogen schließlich den Schluss, dass es sich um Vitamin D₃ handeln müsse. Im Jahr 1979 wurde im Ätherextrakt des Goldhafers Vitamin D₃ nachgewiesen, allerdings in so geringen Mengen, dass bei Aufnahme von normalen Goldhafermengen keine Kalzinosen entstehen sollten (Rambeck et al., 1979).

Wie bei *Solanum glaucophyllum* ist auch in *Trisetum flavescens* 1,25(OH)₂D₃ der aktive Metabolit, der diese Erkrankung auslöst. Dies wurde durch Versuche an rachitischen Hühnerküken mit inhibierter renaler 1 α -Hydroxylase (durch Strontium) nachgewiesen (Kreisl, 1981). Im sogenannten Wachteleischalentest erwies sich das C25-Glycosid wirksamer als die Glycoside –C1 und –C3 (Rambeck et al., 1985). Im Vergleich der synthetischen C25-Glycoside mit gemahlenden Goldhaferblättern zeigten beide die gleiche Aktivität, so dass anzunehmen ist, dass in *Trisetum flavescens* das Calcitriol vorwiegend als C25-Glycosid vorliegt.

2.3.1.3 Vorkommen von Kalzinose

In folgender Tabelle sollen das Vorkommen und die regionalen Bezeichnungen von Kalzinosen dargestellt werden.

Tabelle 1 Vorkommen von Kalzinosen (nach Greissinger, 2004)

Land	Auslösende Pflanze	Tierart	Regionale Bezeichnung
Argentinien	Solanum glaucophyllum	Rind, Schaf	Enteque seco
Brasilien	Solanum glaucophyllum,	Rind	Espichamento
	Nierembergia veitchii	Schaf	Calcinosis
Hawaii	Cestrum diurnum, Solanum torvum	Rind, Ziege	Naalehu disease
Florida	Cestrum diurnum	Pferd, Rind	Cestrum diurnum poisoning
Jamaika	Stenotaphrum secundatum	Rind, Ziege	Manchester waisting disease
Papua-Neuguinea	Solanum torvum	Rind	Calcinosis
Südafrika	Solanum verbascifolium	Schaf	Calcinosis
Australien	Solanum esuriale	Schaf	Humpy back
Deutschland	Trisetum flavescens	Rind, Schaf	Enzootische Kalzinose
Österreich	Trisetum flavescens	Rind, Pferd	Weidekrankheit
Schweiz	Trisetum flavescens	Rind, Ziege	Enzootische Kalzinose

2.3.2 Kalzinose

Dabei handelt es sich um eine Krankheit, die besonders durch eine ausgeprägte Weichteilverkalkung gekennzeichnet ist. Diese Verkalkungen betreffen besonders das Herz-Kreislauf-System, Nieren, Lunge, Sehnen und Bänder. Weidetiere in verschiedenen Gebieten der Erde sind davon betroffen.

2.3.2.1 *Klinische Symptome*

Die Ausprägung der klinischen Symptome ist von der betroffenen Tierspezies und von der Menge an aufgenommenem Pflanzenmaterial abhängig.

Die Kalzinose ist durch einen chronischen Verlauf gekennzeichnet. Im Anfangsstadium fallen Gewichts- und Konditionsverlust auf. Bei weiter fortgeschrittener Erkrankung werden Kachexie und Schweratmigkeit deutlich. Der Brustkorb erscheint gedehnt und weist eine kyphotische Krümmung auf, was der Rückenlinie die für die Erkrankung typische Bogenform gibt. Die Körperhaltung wird durch die Muskelatrophie der Hintergliedmaßen und der steil abfallenden Hüften bestimmt. Durch den Abbau von subscapulärem Fett treten die Schulterblätter sehr deutlich hervor.

Bei der Atemtätigkeit fällt vor allem auf, dass die Rippenbewegungen nicht mehr erkennbar sind. Zwerchfellatmung dominiert, die Atmung ist schnell und flach. Weitgestellte Nasenlöcher, sowie ein gestreckter Kopf lassen ebenfalls die Dyspnoe erkennen.

Der chronische Verlauf ist auch durch das lange, struppige, aufgehellte Haarkleid erkennbar. Blasse Schleimhäute, ein schwacher, schneller Puls bei unveränderter Körpertemperatur zeigen die Beeinträchtigung des Kreislaufsystems.

Die Karpalgelenke werden leicht gebeugt und das Gewicht wird auf die Klauenspitzen bzw. Hufspitzen verlagert. Die Fußwurzelgelenke erscheinen verdickt und steif. Betroffene Tiere verharren auf der Stelle und bewegen sich nach Aufforderung nur langsam, schwankend und sichtbar von Schmerzen geplagt. Nach schnellen, fluchtartigen Bewegungen brechen die

Tiere aufgrund von Herz- und Lungeninsuffizienz zusammen. (Döbereiner, 1971; Carillo, 1971; Lynd et al., 1965; Riet Correa et al., 1993; Tokarnia et al., 2000).

Bei Schafen ist die Ausprägung der klinischen Symptome etwas anders. So kann man die spontane Kalzinose der Schafe in verschiedene Grade einteilen:

Subklinische Kalzinose

Beginnende Verkalkung der Weichgewebe, Umbau von Gelenkknorpel, Knochenmedulla und Knochenkompakta

Allgemeinbefinden ungestört, Stehen und Gehen unbeeinträchtigt, adspektorische Beurteilung unauffällig; Anstieg der Herz- und Atemfrequenz, in Einzelfällen expiratorische Dyspnoe und ggr. systolische Herzgeräusche;

Grad 1

Beugehaltung im Carpus, Fessel steil gestellt, Sprunggelenke vergleichsweise gering gewinkelt, steifer zögernder Gang mit verkürzter Hangbeinphase, Verbleiben am Ende der Gruppe, erhöhte Atemfrequenz und expiratorische betonter Atemtyp bei schnellerer Bewegung.

Grad 2

häufiges Liegen, Verharren auf den Karpalgelenken beim Aufstehen, eventuell Futteraufnahme in dieser Stellung;

Bei der klinischen Untersuchung der Extremitäten lässt sich nur selten und allenfalls eine schwache Schmerzreaktion hervorgerufen. Gelenkfüllung ist nur in seltenen Fällen festzustellen.

Grad 3:

geprägt durch die Beeinträchtigung von Kreislauf und Atmung: plötzliches Versagen der Herzfunktion, akutes Lungenödem bzw. chronische

Herzinsuffizienz und daraus resultierend Hydrothorax, Hydroperikard, Lungenödem, Lungenfibrose, Aszites, Stauungsleber; auskultatorisch ist ein holosystolisches Rauschen feststellbar, Stauung der V. jugularis.

(Dirksen et al., 2003)

2.3.2.2 Labordiagnostische Befunde

Die labordiagnostischen Befunde beim Rind werden besonders anhand eines Fallbeispiels im Unterengadin deutlich. Dort war bei sechzehn Milchkühen durch Goldhafer verursachte Kalzinosen aufgetreten. Hierbei waren bei fünf Tieren der Calciumspiegel im Serum erhöht, bei zehn Tieren waren die Magnesiumkonzentrationen im Serum erniedrigt. Der Phosphatspiegel war bei allen Tieren entweder im Referenzbereich oder erniedrigt (Braun et al., 2000).

2.3.2.3 Pathologisch- anatomische Befunde

Die pathologisch- anatomischen Befunde spiegeln das Bild einer Hypervitaminose D wieder.

Bei der makroskopischen Betrachtung fallen generell folgende Befunde auf:

-
- Unterschiedlich dichte Verkalkungen in den großen Arterien, besonders der Aorta;
 - Intima der Gefäße von Plaques unterschiedlicher Form und Größe bedeckt
 - Mineralisierung der Herzklappen und der Oberfläche des Endothels
 - Lungen von Bezirken mit bimssteinartiger Oberfläche durchsetzt
 - Weißliche fokale Bezirke in der Nierenrinde, weißliche, homogene Streifen im Nierenmark
 - Verkalkung der Bänder und Sehnen
 - Zwerchfell mit opaken und rauen mineralisierten Plaques
 - Schilddrüse mit Herden unterschiedlicher Form und Größe durchsetzt
 - Uteruswand verdickt, verhärtet und unelastisch aufgrund schwerwiegender Kalzifizierung
 - Zahlreiche Gelenkknorpel mit granulären Bezirken

2.3.2.4 Pathohistologische Befunde

Die mikroskopische Untersuchung liefert eine Bestätigung der makroskopischen Betrachtung:

-
- Die histopathologische Untersuchung ergibt eine Degeneration der elastischen Fasern der Arterien. Ebenso können die kollagenen Fasern betroffen sein.
 - Schwerwiegende Verkalkungen in Uterus, Skelettmuskulatur, Pansen, Darm, Schilddrüse, Lymphknoten und Milz werden mikroskopisch sichtbar
 - Die Veränderungen in Bändern und Sehnen gleichen denen der Arterien.
 - Das Herzmuskelgewebe kann Degeneration, Nekrose und kalzifizierte Bezirke aufweisen, bzw. kann auch durch Fasergewebe ersetzt worden sein.
 - Lungensepten sind in manchen Fällen degeneriert und weisen Verkalkungen auf. Im Knorpelgewebe von Bronchen und Trachea sind oft dystrophische Verkalkungen sichtbar.
 - In den Nieren sind im Interstitium ebenfalls dystrophische Verkalkungen zu finden; die Nierenarterien stellen sich im mikroskopischen Bild wie die restlichen Arterien im Körper dar.
 - Die C-Zellen der Schilddrüse zeigen sich teilweise hypertrophiert und teilweise degeneriert.

(Döbereiner et al., 1975, Krook et al., 1975, Barros et al., 1981; Barros und Gimeno, 2000; Riet Correa et al., 1993; Gill et al., 1976; Dämmrich et al., 1975; Hänichen et al., 1970; Libiseller und Gunhold, 1969; Tokarnia et al., 2000)

2.3.2.5 Therapie und Prophylaxe

Therapieversuche mit komplexbildenden Verbindungen wie Aluminiumhydroxid, um Calcium im Organismus zu binden, blieben bislang ohne Erfolg (Nowotzin, 1983). Aufgrund der fehlenden Therapiemöglichkeiten bleibt als einzige Prophylaxemöglichkeit, die Aufnahme der kalzinogenen Pflanzen zu verhindern. Dies kann auf verschiedene Arten erreicht werden:

Fernhalten der Tiere von den betroffenen Weiden bzw. Beschränkung des Aufenthaltes auf hochbelasteten Weiden und zusätzliche Futtermittellieferung (Pötsch, 1999).

Beschränkung der Mineralstoffversorgung auf die Ergänzung von defizitären Mengen- und Spurenelementen und Vermeidung von zusätzlicher Vitamin D-Zufuhr. Tiere, die an Selenmangel leiden, sind anfälliger für die Ausprägung dieser Erkrankung. Daher sollte laut Ruksan et al. (2000) besonders in Selenmangelgebieten auf die ausreichende Versorgung mit diesem Spurenelement geachtet werden. In der gleichen Studie von Ruksan et al. wurde der Einsatz eines Anticoccidiostatikums zur Therapie der Kalzinose getestet. Monensin behindert das Wachstum der Pansenbakterien, so dass das in den Pflanzen gebundene Calcitriol nicht mehr freigesetzt werden kann. In gebundener Form entfaltet das Calcitriol seine Wirkung wesentlich langsamer.

2.3.2.6 Wirtschaftliche Bedeutung

Die wirtschaftlichen Verluste durch Kalzinosen entstehen in erster Linie durch Einschränkungen der Leistungsfähigkeit und nicht durch den Tod der Tiere. Für *Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens* konnten folgende Leistungseinbußen beobachtet werden.

- Gewichtsverlust der betroffenen Tiere (Puche and Bingley, 1995)
- Mangelhafte Futtermittellieferung (Mello, 1991)
- Fruchtbarkeitsstörungen (Mello et al., 1999)
- Minderwertige Fleischqualität (Tarres et al., 1977)
- Verlängerte Mastzeiten (Puche and Bingley, 1995)
- Erhöhte Anfälligkeit für andere Erkrankungen (Dirksen et al., 1972)
- Behandlungsaufwand (Dirksen et al., 1972)

2.3.3 Therapeutischer Einsatz kalzinogener Pflanzen

(*Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens*)

Nach Entdeckung und Untersuchung der Wirkprinzipien von Vitamin D₃ - Metaboliten in einigen kalzinogenen Pflanzen wurde versucht, diese für die Medizin nutzbar zu machen. Besonders die schnelle Verfügbarkeit und eine kostengünstige Herstellung schienen als bedeutende Vorteile. Desweiteren enthalten die kalzinogenen Pflanzen direkt den aktiven Metaboliten 1,25(OH)₂D₃ und müssen nicht erst im Körper metabolisiert werden. Allerdings schwankt die Menge der calzinogenen Metaboliten aus unterschiedlichen Gründen, vor allem zwischen *Trisetum flavescens* und *Solanum glaucophyllum*, so dass die Standardisierung einen gewissen Aufwand erfordert.

Besonders die Spezies Rind stand bei diesen Überlegungen sehr früh im Vordergrund. Da die hypocalcämische Gebärpause des Rindes mit großen wirtschaftlichen Verlusten verbunden ist, besteht großes Interesse sowohl an einer wirksamen Therapie als auch an einer erfolgreichen Prophylaxe.

So konnten Barlet et al. (1979) zeigen, dass bei oraler Gabe von 25 bis 50 g *Solanum glaucophyllum* pro Tier und Tag über einen Zeitraum von sechs Tagen, sowohl der maternale als auch der fetale Calciumspiegel im Serum erhöht waren und eine peripartale Hypocalcämie verhindert wurde. Nach Calcium- Infusionen hingegen war nur der maternale Calciumspiegel im Serum erhöht.

Dieser Therapieansatz wurde von Roux et al. (1979) bestätigt, die 25 bis 35g (pro Tag) getrocknete Blätter zwischen acht und zwei Tagen vor dem errechneten Geburtstermin verabreichten.

Allerdings stellten Kunz und Hänichen (1981; 1983) wenige Jahre später fest, dass diese Dosierungen von *Solanum glaucophyllum* zu Verkalkungen unterschiedlichen Grades in der Aorta abdominalis führen, so dass mit dieser Art von Milchfieberprophylaxe ein hohes Risiko von Weichteilverkalkungen verbunden war.

Diese Grundlagen wurden von Fricke (1985) aufgegriffen, der mit nicht-calzinogenen Dosierungen Prophylaxemöglichkeiten von Milchfieber untersuchte. Bei alleiniger Gabe ante partum konnte keine sichere

Prävention erfolgen, während bei insgesamt zweimaliger Verabreichung von je 15 g Solanum (zwei Tage a.p. und einen Tag p.p.) die Wirksamkeit festgestellt werden konnte.

Auch das in Europa heimische Gras *Trisetum flavescens* wurde hinsichtlich seiner Eignung zur Milchfieberprophylaxe untersucht. Dirksen et al. (1981) konnten nach künstlicher Grüntrocknung und Herstellung von Cobs das Fortbestehen der kalzinogenen Aktivität feststellen, so dass eine mögliche Verwendung solcher Cobs zur Milchfieberprävention von Buchelt (1986) untersucht wurde. Beim Einsatz dieser Cobs lag die Schwierigkeit in der Aufnahmekapazität der Kühe. Die erforderliche Menge von fünf bis sechs kg an Cobs (pro Tier und Tag) vom sechsten bis zum dritten Tag ante partum konnte im Allgemeinen nicht aufgenommen werden.

Aber auch beim Geflügel wurde *Solanum glaucophyllum* zur Verbesserung der Eischalenqualität herangezogen. Grund für das vermehrte Auftreten von sogenannten „Windeiern“ bei älteren Legehennen ist eine reduzierte 1-Hydroxylaseaktivität der Niere (Rambeck et al., 1991). Durch Applikation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ konnte eine Steigerung der Legeleistung und eine zunehmende Calciumausscheidung mit der Eischale erreicht werden.

Morris (1977) untersuchte nach Verfütterung von *Solanum glaucophyllum*-Blättern (in einer Dosierung im Futter von 3,5 %) den Effekt auf die Eischale und konnte eine merkliche Zunahme der Eischalendicke feststellen.

Gallego et al. (1979) verabreichten pro Henne täglich 200 mg getrocknete Blätter. Sie konnten zwar eine Zunahme der Eischalendicke beobachten, aber auch einen Rückgang der Legeleistung.

Da bekannt war, dass beim Rind höhere Dosierungen zu Verkalkungen der Weichteilgewebe führen, wurden Versuche mit niedrigen Dosierungen durchgeführt (Reichenbächer, 1979). *Solanum glaucophyllum* mit einem Anteil von 0,3 % im Futter bewirkt keine Verbesserung der Eischalenqualität, während *Trisetum flavescens* bei einem Anteil von 15 % einen deutlichen Effekt auf die Eischalendicke hat. Beide Präparate zeigten einen positiven Effekt auf die Legeleistung.

Auch in der Broilermast wäre der Einsatz von *Solanum glaucophyllum* in Kombination mit Verabreichung von Phytase sinnvoll. Durch Phytinsäure, die im Futter enthalten sein kann, wird Calcium gebunden und ist somit nicht

mehr verfügbar. Diese Phytinsäure kann durch das Enzym Phytase gespalten werden. Durch 1200 IE/ kg Phytase im Futter in Verbindung mit 7,5 g Solanum pro kg Futter wurde eine Gewichtszunahme der Broiler, eine Erhöhung des Calcium- und Phosphatspiegels im Blut sowie des Mineralstoffgehaltes in den Knochen erreicht (Cheng et al., 2004).

Auch in der Humanmedizin lässt sich über Ansatzpunkte für den Einsatz kalzinogener Pflanzen spekulieren. So ist besonders die Therapie der chronischen Niereninsuffizienz zu erwähnen, wo diese Präparate versuchsweise zur Substitution von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eingesetzt wurden, um eine Steigerung der intestinalen Calciumabsorption zu erzielen (Herrath et al., 1974, Mautalen et al., 1977). Ein weiterer Ansatzpunkt ist die postmenopausale Osteoporose. Hierzu wurden an unserem Institut mit ovariektomierten Ratten als „Small Animal Model“ erste Untersuchungen durchgeführt, die eindeutig die knochenprotektive Wirkung von *Trisetum flavescens* und *Solanum glaucophyllum* zeigten (von Rosenberg, 2005). Die beiden Substanzen bewirkten eine Verbesserung der Knochendichte aufgrund einer gesteigerten Aktivität der Osteoblasten (von Rosenberg et al., 2007).

Allerdings ist bislang in der Humanmedizin keine Standardisierung eines Einsatzes kalzinogener Pflanzen erfolgt.

3 Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit sollte erstmals ein Produkt von *Solanum glaucophyllum* zur Vorbeugung einer hypocalcämischen Gebärparese bei Milchkühen im Rahmen einer Feldstudie untersucht werden. Hierbei wurde der Serumcalciumspiegel nach einer einmaligen *Solanum*-Applikation in einem Zeitfenster von maximal 72 Stunden vor der Geburt bis 72 Stunden nach der Geburt als Hauptzielparameter untersucht.

Als Vergleich sollte der Serumcalciumspiegel von Kühen dienen, denen zur Prophylaxe einer hypocalcämischen Gebärparese Calciumsalze in Bolusform in der vom Hersteller empfohlenen Dosierung appliziert wurden.

3.1 Versuchstiere

Die vorliegende Studie war als Feldversuch konzipiert. Die Tiere standen in verschiedenen landwirtschaftlichen Betrieben in Mittelfranken, in den Landkreisen Fürth, Ansbach, Roth und der Stadt Schwabach. Im Rahmen der Vorversuche wurden 15 Fleckvieh-Kühe untersucht. Im Rahmen des Hauptversuches wurden 79 Fleckvieh-Kühe untersucht. Allerdings fand nur bei 26 Tieren die Geburt in den vorgegebenen Zeitfenstern statt, sodass dieses als limitierender Faktor in der Tierauswahl gelten kann. Die Tiere wurden entweder in Anbindehaltung oder im Laufstall gehalten.

Bei den Tieren der Vorversuche 1a und 1b handelt es sich um drei nichtträchtige, laktierende Kühe, die mindestens in der 4. Laktation waren. Die Tiere, die im Rahmen des Vorversuches 2 untersucht wurden, waren noch nie von hypocalcämischer Gebärparese betroffen und befanden sich zwischen der 2. und der 8. Laktation.

Alle Tiere, die im Rahmen des Hauptversuchs untersucht wurden, waren in vorhergehenden Laktationen mindestens einmal an Gebärparese erkrankt.

3.2 Gruppeneinteilung

3.2.1 Vorversuch

Für die Vorversuche 1a und 1b dienten drei nichtträchtige, laktierende Kühe. Diese Tiere werden mit V1 und anschließender fortlaufender Numerierung bezeichnet.

Die 12 Kühe des Vorversuches 2 werden mit V2 und anschließender fortlaufender Numerierung bezeichnet.

3.2.2 Hauptversuch

Die für den Hauptversuch zur Verfügung stehenden Tiere wurden nach Anzahl der Kalbungen in zwei Gruppen aufgeteilt: Eine Gruppe erhielt Bovicalc® in der vom Hersteller angegebenen Dosierung und diente als Kontrollgruppe. Der zweiten Gruppe wurde ein Solanum glaucophyllum-Produkt appliziert. Die Numerierung der Probanden erfolgte nach Gruppenzugehörigkeit (B, S) mit anschließender fortlaufender Numerierung. Die Tiere der Gruppe, die Solanum glaucophyllum erhielt, werden mit S bezeichnet und die Gruppe, die Bovicalc® erhielt, wird mit B bezeichnet.

3.3 Daten der Probanden

3.3.1 Vorversuch 1a: Erfassung des Verlaufs des Serum-Calciumspiegels ohne Solanum- Applikation

Die in dem Versuch eingesetzten nichtträchtigen, laktierenden Fleckvieh-Kühe standen alle in Anbindehaltung, und die letzte Kalbung lag mindestens fünf Monate zurück. Der Ernährungszustand war bei allen drei Tieren

unterschiedlich. Die Milchleistungen der letzten abgeschlossenen Laktation lagen zwischen 3850 kg und 6750 kg (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2 Daten der Probanden der Vorversuche für Erfassung des Serumcalcium-Verlaufs: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung und Haltungsform

Kuh V1	Alter in Jahren	Anzahl der Kalbungen	Ernährungszustand	Milchleistung in kg	Haltungsform
-1	6,2	4. Kalb	gut	5355	Anbindehaltung
-2	6,6	4. Kalb	mäßig	6750	Anbindehaltung
-3	6,6	4. Kalb	mastig	3850	Anbindehaltung

3.3.2 Vorversuch 1b: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum-Applikation

Im Vorversuch 1b wurden Blutentnahmen nach Solanum glaucophyllum-Applikation bei den Probanden des Vorversuchs 1a durchgeführt.

3.3.3 Vorversuch 2: Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum-Applikation im präpartalen Zeitraum

Bei den Probanden für diesen Vorversuch handelt es sich um Fleckviehkühe, die entweder im Laufstall oder in Anbindehaltung gehalten wurden. Die Altersverteilung lag zwischen 3,3 und 10,4 Jahren, wobei die Anzahl der Kalbungen zwischen der zweiten und der achten Kalbung lag. Zwei Tiere waren in sehr gutem Ernährungszustand, ein Tier war mastig und die restlichen neun Tiere befanden sich in gutem Ernährungszustand. Die Milchleistungen der letzten abgeschlossenen Laktation lagen zwischen 4927 kg und 11141 kg (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3 Daten der Probanden des Vorversuches für Erfassung des Calciumspiegels nach *Solanum glaucophyllum*- Applikation im präpartalen Zeitraum: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung und Haltungsform

Kuh V1	Alter in Jahren	Anzahl der Kalbungen	Ernährungszustand	Milchleistung in kg	Haltungsform
-1	5,4	3. Kalb	gut	9137	Anbindehaltung
-2	3,3	2. Kalb	gut	9039	Laufstall
-3	5,5	5. Kalb	gut	11141	Laufstall
-4	3,4	2. Kalb	gut	6523	Laufstall
-5	3,4	2. Kalb	mastig	4927	Anbindehaltung
-6	4,3	3. Kalb	gut	8382	Laufstall
-7	5,4	4. Kalb	sehr gut	10598	Laufstall
-8	4,1	3. Kalb	gut	7923	Laufstall
-9	5,5	4. Kalb	gut	7372	Anbindehaltung
-10	3,3	2. Kalb	gut	6144	Anbindehaltung
-11	10,4	8. Kalb	gut	7983	Anbindehaltung
-12	5,2	4. Kalb	sehr gut	10423	Laufstall

3.3.4 Hauptversuch

Tabelle 4 zeigt die Daten der Probanden des Hauptversuchs. 13 Kühe waren der *Solanum*-Gruppe zugeteilt. Diese Kühe waren zwischen 4,3 und 9,6 Jahre alt. Die Bovicalc®-Gruppe umfasste 12 Kühe, welche zwischen 4,8 und 9,5 Jahre alt waren. In beiden Gruppen lag die Anzahl der Kalbungen zwischen der 3. erwarteten Kalbung und der 8. erwarteten Kalbung. Der Ernährungszustand der Probanden des Hauptversuchs reichte von mäßig bis mastig. In der *Solanum*-Gruppe differierte die Milchleistung in der letzten abgeschlossenen Laktation zwischen 5900 kg und 8400 kg (MW 7095,3 kg; SD \pm 765 kg). In der Bovicalc®-Gruppe lag die Milchleistung in der letzten Laktation zwischen 5800 kg und 9100 kg (MW 7527,9 kg; SD \pm 1170 kg).

Tabelle 4 Daten der Probanden des Hauptversuchs: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung, Haltungsform

Kuh V1	Alter in Jahren	Anzahl der Kalbungen	Ernährungszustand	Milchleistung in kg	Haltungsform
S1	4,3	3. Kalb	sehr gut	8400	Laufstall
S2	8,5	6. Kalb	mäßig	6000	Anbindehaltung
S3	5,3	4. Kalb	gut	6800	Anbindehaltung
S4	5,3	4. Kalb	gut	8100	Laufstall
S5	6,5	5. Kalb	sehr gut	6080	Laufstall
S6	5,3	3. Kalb	mastig	5900	Laufstall
S7	9,3	7. Kalb	gut	7570	Laufstall
S8	9,6	8. Kalb	mäßig	7043	Anbindehaltung
S9	9,4	8. Kalb	gut	7143	Laufstall
S10	7,1	6. Kalb	mastig	6993	Laufstall
S11	9,2	7. Kalb	mäßig	7256	Laufstall
S12	6	4. Kalb	sehr gut	7500	Laufstall
S13	7,2	6. Kalb	gut	7454	Laufstall
B1	4,8	3. Kalb	gut	7900	Laufstall
B2	8,8	7. Kalb	sehr gut	7600	Anbindehaltung
B3	9,8	7. Kalb	gut	7400	Anbindehaltung
B4	6,5	6. Kalb	gut	9100	Laufstall
B5	4,8	3. Kalb	gut	5800	Anbindehaltung
B6	7,8	6. Kalb	mastig	8000	Anbindehaltung
B7	5,6	4. Kalb	mastig	5997	Laufstall
B8	5,8	4. Kalb	mäßig	7332	Laufstall
B9	9,4	8. Kalb	mastig	7320	Laufstall
B10	7,4	6. Kalb	gut	5930	Laufstall
B11	5,3	4. Kalb	mäßig	8856	Laufstall
B12	9,5	8. Kalb	mastig	9100	Anbindehaltung

3.4 Versuchsaufbau

3.4.1 Gruppeneinteilung

Nach Auswahl der Probanden wurden diese zunächst ausgehend von der Anzahl der Kalbungen in Solanum- Gruppe und Bovicalc®- Gruppe unterteilt, wobei die Tiere gleichmäßig auf diese beiden Gruppen verteilt wurden. Die

Solanum- Gruppe stellt die Versuchsgruppe dar, die Bovicalc®- Gruppe diente als Vergleichsgruppe.

Aus Tierschutzgründen wurde die Vergleichsgruppe mit der derzeit wirksamsten Prophylaxemethode behandelt. Dieses Vorgehen ist vergleichbar mit Verfahren in der Humanmedizin. Dort werden bei der Prüfung von Alternativtherapien nach den Leitlinien einer Ethikkommission die Interessen aller Probanden und Patienten berücksichtigt. Dies bedeutet, dass die Durchführung dieser Studie mit einer Vergleichsgruppe von unbehandelten, prädisponierten Tieren (= klassische Negativkontrolle) nicht diesen Grundsätzen entsprechen würde.

Die Tiere der Versuchsgruppe erhielten einmalig 5,0 g eines standardisierten Solanum glaucophyllum-Produkts. Der Zeitpunkt der Applikation war 24 bis 72 Stunden ante partum.

Die Vergleichsgruppe erhielt Bovicalc®, ein zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese anerkanntes Calciumpräparat der Firma Boehringer Ingelheim. Bei diesem Präparat handelt es sich um einen Mineralfutterbolus, der Calciumchlorid (58%) und Calciumsulfat (23%) enthält. Die Anwendung des Präparates erfolgte nach Herstellerangaben. Hierbei wurde der 1. Bolus 12 bis 24 Stunden vor der Kalbung, der 2. Bolus direkt nach der Kalbung verabreicht. Der 3. und 4. Bolus wurden 12 und 24 Stunden nach der Kalbung verabreicht. Diese wurden peroral mittels Bolus-Eingeber entsprechend der Herstellerangaben appliziert.

3.4.2 Vorversuche

3.4.2.1 Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels ohne Solanum-Applikation

Um die natürlichen Schwankungen des Calciumspiegels zu ermitteln, wurden bei drei gesunden, nichtträchtigen, laktierenden Kühen Blutentnahmen durchgeführt. Die Intervalle der Blutentnahme wurden wie folgt festgelegt:

Zeitpunkt:

-
- 0
 - 6
 - 12
 - 18
 - 24
 - 30
 - 48
 - 72
 - 96

Stunden.

An diesen Intervallen orientiert sich der anschließend beschriebene Vorversuch.

3.4.2.2 Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum-Applikation

An die unter 3.4.2.1 beschriebenen Kühe wurde einmalig 5,0 g der Substanz von *Solanum glaucophyllum* verabreicht. Zu denselben Intervallen, wie unter 3.4.2.1 beschrieben, fanden Blutentnahmen statt, um den Verlauf des Calcium-Spiegels nach *Solanum glaucophyllum*-Applikation zu überprüfen. Der Zeitpunkt der *Solanum glaucophyllum*-Applikation fand direkt im Anschluss an die Blutentnahme zum Zeitpunkt 0 statt.

3.4.2.3 Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum- Applikation im präpartalen Zeitraum

Da frühere Studien von Fricke (1985) und Buchelt (1986) ergaben, dass die Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* drei Tage vor der Geburt erfolgen muss, sollte mit diesem Vorversuch überprüft werden, welche Abweichungen hinsichtlich des Applikationszeitpunktes des *Solanum glaucophyllum*-Produkts möglich sind, um die Aufrechterhaltung des Serumcalciumspiegels im peripartalen Zeitraum zu gewährleisten. Hierfür

wurden 12 Kühe ausgewählt, die in früheren Laktationen kein hypocalcämisches Festliegen zeigten. Bei Zeichen der bevorstehenden Geburt, d.h. bei deutlichem Einfallen der Beckenbänder bzw. bei deutlichem Anschwellen des Euters, wurde das Präparat in einer Dosierung von 5,0 g pro Kuh einmalig verabreicht. Vor Solanum glaucophyllum-Applikation wurde Blut entnommen und anschließend regelmäßig in 12 Stunden- Intervallen bis zur Geburt. Post Partum wurde zu folgenden Zeitpunkten Blut entnommen, wobei der Zeitpunkt 0 jenen direkt nach der Geburt darstellt:

Zeitpunkt:

- 0
- 6
- 12
- 18
- 24
- 30
- 48
- 72
- 96

Stunden

3.4.3 Hauptversuch

Nachdem die Tiere in Gruppen eingeteilt wurden, erhielten die Tiere der Versuchsgruppe 24 bis 72 Stunden ante partum einmalig 5,0 g des Solanum glaucophyllum- Produktes. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten insgesamt viermal einen Bolus Bovicalc® (12 bis 24 h a.p., direkt p.p., den 3. und 4. Bolus jeweils 12 Stunden später). Blutentnahmen fanden bei Verabreichung a. p., 0,5 h p. p., 12 h p.p. und 72 h p.p. statt.

3.5 Überführung des Wirkstoffes in eine applizierbare Form

Bei dem Präparat Solbone-A WS® der Firma Herbonis AG, CH-4302 Augst, Schweiz handelt es sich um ein wasserlösliches Solanum glaucophyllum-Produkt, welches 50 mg/ kg aktives Vitamin D₃ enthält. Dieses pulverförmige Produkt wurde mit Hilfe des Kapselfüll- und Schließgerätes APONORM (Firma WEPA Paulus & Thewalt GmbH, D 5410 Höhr-Grenzhausen) in Coni-Snap-Gelatinekapseln, Capsugel abgefüllt. Hierbei handelt es sich um elfenbein- opak farbene Kapseln der Größen-Nr. 000 mit 1,37 ml Fassungsvermögen. Jede Kapsel enthielt 0,625 g des Produktes, so dass jedem Probanden acht Kapseln verabreicht wurden. Somit erhält jede Kuh 250 µg des Produkts.

3.6 Probennahme

Die Blutentnahme erfolgte während des Vorversuches abwechselnd aus der V. jugularis dextra, V. jugularis sinistra und der V. coccygea.

Während des Hauptversuches wurde die V. jugularis dextra oder die V. jugularis sinistra punktiert.

Für die Blutentnahme aus der V. coccygea wurden die Tiere von einer Hilfsperson fixiert, der Schwanz senkrecht gestellt und die V. coccygea mittels einer Vacuette (greiner bio- one, one step ahead, 1,25 mm * 38 mm) punktiert.

Für die Blutentnahme aus den Vv. jugulares wurden die Tiere von einer Hilfsperson fixiert, die entsprechende Vene gestaut und mittels einer Einmalkanüle, (1,20 * 40mm, B.Braun), punktiert.

Das Blut wurde in eine 5 ml-Ampulle (BD Vacutainer) abgefüllt. Nach der Gerinnung des Blutes bei Raumtemperatur wurden die Proben 10 Minuten bei 3000 U/ min zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Das Serum wurde bis zur Untersuchung bei -18°C gelagert.

Alle Untersuchungen wurden im Labor des Lehrstuhls für Tierernährung, Oberschleißheim, durchgeführt. Bestimmt wurde der Serum-Gehalt an Calcium, Phosphat und Magnesium.

3.7 Untersuchte Parameter

3.7.1 Bestimmung des Calciumgehalts im Serum

Die Bestimmung des Serumcalciumspiegels erfolgte an einem Flammenphotometer (EFOX 5053, EPPENDORF, Hamburg). Die einzelnen Serumproben wurden mit der gleichen Menge bidestilliertem Reinstwasser (Reinstwasseranlage der Serie ULTRA CLEAR, SG WASSER-AUFBEREITUNG UND REGENERIERSTATION GmbH, Barsbüttel) verdünnt und anschließend mit dem Vortexer homogenisiert. Anschließend wurde die Probe mit einer 1%igen Lithiumchloridlösung (Art. Nr. 0030 358.007, EPPENDORF) mit Hilfe eines Dual Diluters 1:20 verdünnt und mit Acetylen verbrannt. Die Intensität der entsprechenden Flamme war direkt proportional zum Calciumgehalt der Probe.

3.7.2 Bestimmung des Phosphatgehalts im Serum

Der Phosphatgehalt im Serum wurde mittels Photometer (SPEKTRALPHOTOMETER GENESYS 10 UV, THERMO SPECTRONIC, USA) bestimmt. Um die Proben für die Messung vorzubereiten, wurden 100 µl der Serumprobe mit 2 ml Trichloressigsäure (TCA) zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen/ Minute zentrifugiert. Anschließend wurden in PP-Rundbodenröhrchen (10 ml, SARSTEDT AG& Co. KG, Nümbrecht) 2 ml von einer Mischung aus Ammoniummolybdat und Ammoniumvanadatlösung (Mischungsverhältnis 1:1) vorgelegt. Danach wurde 1 ml der zentrifugierten Probenaufbereitung zugegeben und mit dem Vortexer homogenisiert. Anschließend inkubierten die Proben 10 Minuten. Nach der Blindwert-einstellung wurden die Proben bei 366 nm in Messküvetten (Plastibrand® Einmalküvetten 2,5 ml makro PS, Art. Nr. 759005, BRAND, Wertheim) gemessen.

Der Phosphatgehalt in mmol/ l ergab sich aus folgender Formel, wobei der Wert 10,5 einen empirischen Faktor und der Wert 0,34 g/ mmol die Standardkonzentration darstellen.

$$P \text{ (mmol/l)} = (\text{Messwert} * 10,5 / 0,34) * 0,323$$

3.7.3 Bestimmung des Magnesiumgehalts im Serum

Prinzip

Die verschiedenen Elemente weisen im elektromagnetischen Feld typische Absorptionslinien auf. In der Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) wird der ultraviolette oder sichtbare Bereich verwendet. Durch eine Flamme (Ethan/ Luftgemisch oder Ethan/ Lachgas) werden die Atome in einzelne anregbare Atome überführt, in welche die zu analysierende Lösung gesprüht wird. Gemessen wird die Menge des eingestrahnten Lichts einer bestimmten Wellenlänge, welche durch die zu analysierenden Elemente absorbiert wird.

Geräte

- Atomabsorptionsspektrometer A-Analyt 800, PERKIN ELMER, Rodgau-Jügesheim
- Autosampler AS-90, PERKIN-ELMER, Rodgau-Jügesheim
- Mg-Standardlösung: Magnesiumnitrat in Salpetersäure (0,5 mol/l), Art. Nr.: 1.19788, MERCK, Darmstadt
- Programm: Winlab 32 for AA

Bestimmung

Die Serumproben wurden mit der fünffachen Menge Reinstwasser verdünnt und in 10 ml-PP-Rundbodenröhrchen aliquotiert. In das Programm des Analysengerätes wurden die Einwaagen der einzelnen Proben und die

Verdünnung eingegeben und anschließend der Magnesiumgehalt im Serum errechnet.

3.8 Fütterung

Die Rationen der Trockensteher bestanden in allen Betrieben mit geringen Abweichungen aus Grassilage, Maissilage, Heu und Kraftfutter. Die Ration war für eine Milchleistung von 12 kg ausgelegt. In der Regel wurde TMR einmal täglich vorgelegt. In Betrieben, in welchen die Futterzuteilung per Hand stattfand, wurde zweimal täglich Futter vorgelegt. Minerallecksteine standen zur Verfügung.

3.8.1 Weender-Analyse des Futters

Die Bestimmung der Nährstoffe eines Futtermittels erfolgt mittels Weender-Analyse. Da die Probanden in der vorliegenden Arbeit überwiegend TMR erhielten, wurde stichprobenartig eine Weender-Analyse der Rationen in einigen Betrieben durchgeführt.

3.8.1.1 Trockensubstanz-Bestimmung

Um die Trockensubstanz zu ermitteln, wurden etwa 100 bis 150 g der ursprünglichen Substanz im Trockenschrank getrocknet. Dies erfolgte bis zur Gewichtskonstanz bei einer Temperatur von 103 °C. Der nichtflüchtige Anteil des Futters ergab die Trockensubstanz in % der ursprünglichen Substanz.

3.8.1.2 Rohfaser-Bestimmung

Geräte und Materialien

- Foss Fibertec hot extractor 2010, FOSS, Hamburg
- Fibertec cold extractor 1021, FOSS, Hamburg
- Glasfiltertiegel mit eingeschmolzenem gesintertem Glasfilter, FOSS, Hamburg
- Filtrationshilfsmittel: Celite 545, Art. Nr. 102693, MERCK, Darmstadt
- Antischaummittel: Octanol, Art. Nr. 100991, MERCK, Darmstadt
- Schwefelsäure 1,25%ig, Art. Nr. 109912, MERCK, Darmstadt
- Kalilauge 1,25%ig, Art.Nr. 109918, MERCK, Darmstadt
- Bidestilliertes Wasser, Reinstwasseranlage der Serie ULTRA CLEAR, SG WASSERAUFBEREITUNG UND REGENERIERSTATION GmbH, Barsbüttel
- Trockenschrank Heraeus Funktion Kine, KENDRO, Langenselbold
- Muffelofen Controller P320 30-3000 °C, Nabertherm Lilienthal
- Exsikkator aus Glas bezogen von VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien, Österreich

Durchführung

Der Rohfaser-Gehalt wurde aus den getrockneten Proben aus der TS-Bestimmung ermittelt. Die leeren Fritten wurden gewogen und anschließend 1 g (auf 0,1 mg genau) der Probe eingewogen. Zu jeder Probe wurden als Filtrationshilfsmittel 0,2 g Celite (auf 0,1 mg genau) zugefügt.

Anschließend wurden die Proben im Fibertec hot extractor mit Schwefelsäure (H₂SO₄, 1,25%ig) und Kalilauge (KOH, 1,25%ig) gekocht. Im Falle des Aufschäumens der Proben sollten als Antischaummittel 1 bis 2 Tropfen Octanol zugefügt werden. Nach jedem der beiden Säurenkochgänge wurde dreimal mit Reinstwasser gespült. Danach wurden die Glasfiltertiegel etwa

1 h bei 103 °C getrocknet und im Exsikkator etwa 30 min abgekühlt, damit die Gewichtskonstanz beibehalten wurde. Anschließend wurden die Glasfiltertiegel mit der Analysenwaage gewogen und im Muffelofen bei 520 °C verascht und nochmals gewogen.

Der Rohfasergehalt des Futters ergab sich aus der Differenz der Glasfiltertiegel mit der Futtereinwaage als Trockensubstanz vor der Analyse und dem Gewicht des Glasfiltertiegels nach der Veraschung abzüglich der Celiteeinwaage.

3.8.1.3 Rohasche-Bestimmung

Nach Einwaage der Futterprobe (ursprüngliche Substanz) in Porzellantiegel wurden diese im Muffelofen bei 550 °C etwa 36 h verascht. Danach wurde die auf diese Weise erhaltene Rohasche gewogen und der Prozentwert der ursprünglichen Substanz berechnet.

3.8.1.4 Rohprotein-Bestimmung

Prinzip

Grundlage der Rohproteinbestimmung ist das Kjeldahl-Verfahren. Hierbei wird der im Futter vorhandene Stickstoff ermittelt. Mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors kann der Proteingehalt des Futters in Prozent errechnet werden ($N \cdot 6,25$).

Geräte und Materialien

- FOSS Kjeltec 2400, Dispenser 0-25 ml, FOSS, Hamburg
- Schwefelsäure 98%ig, Art. Nr. 100748, MERCK, Darmstadt
- Natronlauge 21%ig, Art. Nr. 105593, MERCK, Darmstadt
- Natronlauge 32%ig, Art. Nr. 105590, MERCK, Darmstadt
- Salzsäure 0,2n, Art. Nr. 113134, MERCK, Darmstadt
- Borsäurelösung 1%ig, Art. Nr. 100160, MERCK, Darmstadt
- Kjeltabs Cu/ 3,5 (3,5 g K_2SO_4 +0,4g $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$), VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien, Österreich

Durchführung

Der Proteingehalt wurde aus den getrockneten Futterproben für die TS-Bestimmung ermittelt. In eine 250 ml Tube wurden 0,5 bis 1g der Futterprobe eingewogen, ein bis zwei Kjeltabs zugegeben und mit dem Dispenser 10 ml konzentrierte H_2SO_4 zugefügt. Im Aufschlussblock wurde die Probe bei $380^\circ C$ gekocht und der in der Probe befindliche Stickstoff in Ammoniumsulfat überführt. Anschließend fand ein Destillierprozess statt, bei dem der Stickstoff unter Zugabe von Natronlauge als NH_3 in eine Vorlage aus Borsäure überführt wurde. Beim anschließenden Titrieren mit Salzsäure wurde der NH_4OH -Gehalt der Vorlage ermittelt und damit die Stickstoffmenge erfasst. Die Umrechnung von Stickstoff auf % Rohprotein erfolgte automatisch. Dieser Wert musste dann noch, bezogen auf die ursprüngliche Substanz, umgerechnet werden.

3.8.1.5 Rohfett-Bestimmung

Geräte und Materialien

- Soxtec Avanti 2050, FOSS, Hamburg
- Soxlet-Hülsen, FOSS, Hamburg
- Trockenschrank
- G Siedesteinchen (Glasperlen), bezogen von VWR INTERNATIONAL, GmbH, Wien, Österreich
- Petrolether (40-60°C). Art. Nr. T173.3, ROTH, Karlsruhe

Durchführung

Für die Fettextraktion wurden die Futterproben aus der TS-Bestimmung verwendet. Mit der Analysenwaage wurde 1 bis 2 g der Probe mittels eines Hülsenträgers direkt in die Filterhülsen eingewogen. In den unteren Behälter wurden je drei Siedesteinchen gegeben und dieser dann gewogen. Dann wurden die Probengefäße in den Fettextractor gegeben, die Extraktionshülsen mit 80 ml Petrolether befüllt und bei 135°C mit Programm 1 extrahiert. Anschließend wurden die Töpfe mit den Glasperlen und dem Fett 60 min bei 103°C im Trockenschrank getrocknet und danach im Exsikkator abgekühlt. Das in der Probe enthaltene Rohfett konnte mit Hilfe der Gewichts Differenz ermittelt werden.

3.8.1.6 Calcium-, Phosphor- und Magnesiumgehalt des Futters

Die Messung dieser Mineralstoffe im Futter erfolgte mit denselben Geräten wie bei der unter 3.7 beschriebenen Mineralstoffmessung aus dem Serum. Der Phosphorgehalt wurde in diesem Fall nach folgender Formel ermittelt:

$$P \text{ (mg/g)} = 10,5 \cdot \text{Messwert} \cdot \text{Verdünnung} / (0,34 \cdot 100 \cdot \text{Einwaage})$$

Hierfür wurden die getrockneten und gemahlene(n) Futterproben mittels Mikrowellenaufschluss homogenisiert.

Prinzip

Durch Kochen in konzentrierter Salpetersäure (HNO₃) bei erhöhten Temperaturen wird die Probe unter Druck aufgeschlossen und zur weiteren Analyse in Lösung gebracht. Bei dem Aufschluss läuft folgende Reaktion ab:



Geräte und Materialien

- Mikrowelle mls 1200 mega mit zugehörigem Steuergerät TERMINAL 320 und 50 ml Quarzglaseinsatz (EMLS ©, PFA-C-35/QS-50 Einsatz), MLS GmbH, Leutkirch im Allgäu
- 10 ml Pipette, EPPENDORF, Hamburg
- 1000 µl Pipette EPPENDORF, Hamburg
- Salpetersäure (HNO₃), Rotipuran® 65%ig, Art. Nr. 4089.2, ROTH, Karlsruhe
- Wasserstoffperoxid (H₂O₂), Rotipuran® 30%ig, Art. Nr. 9681.1, ROTH, Karlsruhe
- Bidestilliertes Wasser, Reinstwasseranlage der Serie ULTRA CLEAR, SG WASSERAUFBEREITUNG UND REGENERIERSTATION GmbH, Barsbüttel

Durchführung

Für den Mikrowellenaufschluss wurden die für die TS-Bestimmung vorbereiteten Proben verwendet. Mit der Analysenwaage wurden diese in die Quarzglaseinsätze eingewogen und in die Druckkammern aus Teflon eingesetzt.

In die Quarzgläser wurden je 5 ml HNO₃ aliquotiert, und in die sie umgebenden Teflontiegel wurden je 5 ml Reinstwasser und je 1 ml H₂O₂ aliquotiert.

Anschließend wurden die Druckkammern verschraubt und in das Mikrowellenrondell eingesetzt, wobei in eine der Kammern in einen dafür vorgesehenen Mechanismus ein Temperatursensor eingesetzt wurde. Nach einer Kochphase von etwa 60 min und einer 20 minütigen Abkühlungsphase konnte man die Druckkammern und somit auch die Proben aus den Tiegeln entnehmen. Die nun in Lösung gebrachten Proben wurden in 12 ml-Röhrchen überführt und mit Reinstwasser bis zur 10ml-Skalierung aufgefüllt.

3.9 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SIGMA STAT, Version 3.0, SYSTAT SOFTWARE Inc., Richmond, CA, USA.

Die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen in dieser Arbeit wurden als Mittelwert (MW) mit der dazugehörigen Standardabweichung (SD) angegeben.

Zur Beurteilung der Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen wurden der t- Test sowie der Mann-Whitney rank sum test herangezogen.

Die Beurteilung der Unterschiede zwischen den Gruppen mit Sortierung nach Anzahl der Kalbungen erfolgte mit Hilfe der One way Analysis of variance.

4 Ergebnisse

±

4.1 Klinische Erscheinungen

4.1.1 Vorversuch 1a: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels ohne Solanum- Applikation

Die drei Tiere zeigten während des Beobachtungszeitraumes keinerlei klinische Veränderungen.

4.1.2 Vorversuch 1b: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum- Applikation

Bei keiner der drei Kühe waren klinische Veränderungen während des Beobachtungszeitraumes zu bemerken.

4.1.3 Vorversuch 2: Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum- Applikation im präpartalen Zeitraum

In Tabelle 5 sind die während des Vorversuches 2 aufgetretenen klinischen Veränderungen während des Versuchszeitraumes dargestellt. Bei zwei Kühen konnte beobachtet werden, dass die Futteraufnahme im postpartalen Zeitraum (bis 48 Stunden p.p.) nur sehr verhalten erfolgte. Eine Kuh zeigte Nachgeburtshaltung, die mit manueller Abnahme und einmalig lokaler Antibiose behandelt wurde. Eine andere Kuh entwickelte aufgrund einer Nachgeburtshaltung eine Puerperalsepsis, welche mit systemischer Antibiose und nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAID) behandelt wurde.

Tabelle 5 Klinische Erscheinungen bei den Probanden des Vorversuchs

Kuh-Nr., V2	Klinische Erscheinung
V2-1	reduzierte Futteraufnahme im postpartalen Zeitraum
V2-2	keine
V2-3	keine
V2-4	Puerperalsepsis nach Retentio secundinarum
V2-5	reduzierte Futteraufnahme im postpartalen Zeitraum
V2-6	keine
V2-7	keine
V2-8	keine
V2-9	keine
V2-10	keine
V2-11	keine
V2-12	Retentio secundinarum

4.1.4 Hauptversuch

In der Solanum- Gruppe wurde bei einer Kuh (S2) Festliegen etwa 6 Stunden p.p. beobachtet. Bei diesem Tier fand die Geburts nachts ohne menschliche Anwesenheit statt. Am nächsten Morgen lag das Tier fest. Der Calciumgehalt lag zu diesem Zeitpunkt bei 1,92 mmol/l. Bei einer Blutentnahme durch den Hoftierarzt zeigte sich neben einem geringgradig erniedrigten Phosphatwert auch eine Erhöhung des CK-Wertes.

Bei Kuh S5 war Retentio secundinarum zu beobachten. Dieses Tier wurde durch manuelle Abnahme der Plazenta und einmalige lokale Antibiose behandelt.

Ein weiteres Tier (S7) zeigte Milchfieber-Symptome etwa 12 h p.p. Dieses Tier wurde mit einer einmaligen Infusion einer Calciumborogluconatlösung behandelt.

Die Kuh S9 zeigte reduzierte Futteraufnahme im postpartalen Zeitraum (bis etwa 48 h p.p.).

Eine Kuh, welche in Tabelle 4 Tabelle 1 nicht aufgeführt wird, zeigte etwa 24 h p.p. Symptome von drohendem Festliegen, welche dann mit 750 ml einer

Calciumborogluconatlösung behandelt wurde. Dieses Tier ging nicht in die Auswertung ein.

In Tabelle 6 sind die klinischen Erscheinungen bei den Tieren der Solanum-Gruppe dargestellt.

Tabelle 6 Klinische Erscheinungen bei den Tieren der Solanum- Gruppe

Kuh-Nr.	Klinische Erscheinung
S1	keine
S2	Festliegen direkt post partum, CK-Wert erhöht
S3	keine
S4	keine
S5	Retentio secundinarum
S6	keine
S7	Festliegen 12 Std. p.p.
S8	keine
S9	reduzierte Futteraufnahme
S10	keine
S11	keine
S12	keine
S13	keine

In der Bovicalc®- Gruppe kam zum Festliegenlag einem Tier (B3) etwa 12 h p.p. Festliegen. Mit einer einmaligen intravenösen Infusion von 750 ml einer Calciumborogluconatlösung konnten diese Symptome behandelt werden.

Eine Kuh (B9) zeigte schwerfällige Bewegungen im gesamten peripartalen Zeitraum. Die Ursache war ein Sohlenwandgeschwür an der Außenklaue der rechten Beckengliedmaße.

Zwei weitere Kühe entwickelten eine Mastitis: Das Tier B10 erkrankte an einer subakuten Form etwa 24 h p.p., und B11 an einer akuten Form etwa 24 h ante partum.

Kuh B12 zeigte post partum eine Reduzierung der Futteraufnahme (bis etwa 24 h p.p.).

(Vgl. Tabelle 7)

Tabelle 7 Klinische Erscheinungen bei den Tieren der Bovicalc®-Gruppe

Kuh-Nr.	Klinische Erscheinung
B1	keine
B2	keine
B3	Festliegen post partum
B4	keine
B5	keine
B6	keine
B7	keine
B8	keine
B9	schwerfälliges Aufstehen im gesamten Beobachtungszeitraum, wegen Lahmheit
B10	Mastitis subakut 24 Std. post partum,
B11	Mastitis akut 24 Std. ante partum
B12	reduzierte Futteraufnahme

4.2 Laborchemische Parameter

4.2.1 Serumcalciumgehalt

Der Referenzbereich für den Serumcalciumgehalt liegt zwischen 2,1 mmol/l und 2,7 mmol/l. Bei Kühen im peripartalen Zeitraum ist immer eine Hypocalcämie zu beobachten, die 1,9 mmol/l nicht wesentlich unterschreitet. Bei Tieren, die an Gebärgparese erkranken, sinkt der Serumcalciumgehalt unter 1,5 mmol/l ab (Martig, 2002).

4.2.1.1 Vorversuche

Vorversuch 1a: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels ohne Solanum- Applikation

Tabelle 8 zeigt den Verlauf des Serumcalciumgehalts innerhalb eines Zeitraums von 96 Stunden nach der ersten Blutentnahme. Bei Kuh V1-1 schwankt der Serumcalciumgehalt von 2,48 mmol/l bis 2,92 mmol/l, bei Kuh V1-2 variieren die Werte zwischen 2,24 mmol/l und 2,76 mmol/l und bei Kuh V1-3 zwischen 2,28 mmol/l bis 2,72 mmol/l.

Tabelle 8 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs zu den Intervallen: 0, 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72, 96 Stunden nach der ersten Blutentnahme

Kuh V1-	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h	48 h	72 h	96 h
-1	2,84	2,64	2,58	2,66	2,48	2,84	2,88	2,92	2,82
-2	2,48	2,58	2,76	2,42	2,46	2,32	2,32	2,24	2,32
-3	2,44	2,54	2,28	2,72	2,48	2,42	2,34	2,62	2,52

Vorversuch 1b: Erfassung des Verlaufs des Serumcalciumspiegels nach Solanum- Applikation

Tabelle 9 zeigt den Verlauf des Serumcalciumgehalts bei den drei Kühen des Vorversuchs 1a nach oraler Verabreichung von 5,0 g des Solanum glaucophyllum-Produkts. Bei allen drei Tieren ist bereits 6 Stunden nach Solanum-Applikation ein deutlicher Anstieg des Serumcalciumgehalts zu beobachten. Bei den Tieren V1-1 und V1-3 ist der Serumcalciumgehalt über den gesamten Zeitraum von 96 Stunden deutlich höher als der Ausgangswert, während bei Kuh V1-2 die Werte ähnlich wie in Vorversuch 1a schwanken.

Tabelle 9 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 1b zum Zeitpunkt 0 und 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72 und 96 Stunden nach Solanum- Applikation

Kuh V1-	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h	48 h	72 h	96 h
-1	2,00	2,64	2,58	2,66	2,48	2,78	2,88	2,92	2,64
-2	2,42	3,06	2,46	2,42	2,46	2,68	2,72	3,04	2,46
-3	2,12	2,54	2,62	2,74	2,48	2,42	2,62	2,84	2,52

Vorversuch 2: Erfassung des Serumcalciumspiegels im Verlauf nach Solanum glaucophyllum-Applikation im präpartalen Zeitraum

Die Tabellen 10 bis 13 zeigen die unterschiedlichen Applikationszeitpunkte von Solanum glaucophyllum vor der Geburt, den Serumcalciumgehalt der Tiere vor Solanum glaucophyllum-Applikation und den Serumcalciumgehalt der Kühe im 6- bzw. 12-Stunden- Intervall vom Zeitpunkt der Solanum-Applikation bis zur Geburt, sowie den Serumcalciumverlauf im postpartalen Zeitraum (bis 96 Stunden p.p.). Bei dieser Studie wurde deutlich, dass bei den einzelnen Tieren die Zeitspanne zwischen den ersten Anzeichen der nahenden Geburt und dem tatsächlichen Einsetzen der Geburt erheblich variieren kann. Als erste Anzeichen der nahenden Geburt und dem daraus folgenden Applikationszeitpunkt des Solanum glaucophyllum-Produkts galten in der vorliegenden Studie die Zeichen des „deutlichen Einfallens der Beckenbänder“ sowie das „deutliche Anschwellen des Euters“. Diese Zeitspanne variierte zwischen 120 Stunden und 6 Stunden ante partum.

Die Calciumwerte vor Solanum- Applikation lagen zwischen 1,5 mmol/l und 2,9 mmol/l.

Ante partum traten nach Solanumverabreichung nur bei Kuh V2-5 Calcium-Werte unter 1,6 mmol/l auf, ohne dass Milchfiebersymptome beobachtet werden konnten. Bei allen anderen Tieren lag der Serumcalciumgehalt mindestens bei 2,0 mmol/l und stieg bei Kuh V2-2 sogar zum Zeitpunkt 12 h a.p. bis 3,5 mmol/l an.

Im postpartalen Zeitraum waren die Calciumwerte bei Kuh V2-5 durchgehend >1,9 mmol/l, während bei Kuh V2-6 der Calciumspiegel bis 1,54 mmol/l absank. Bei Kuh V2-1 waren im postpartalen Zeitraum Calciumwerte >3,5

mmol/l zu beobachten. Bei allen anderen lag der Calciumgehalt zwischen 1,9 mmol/l und 3,0 mmol/l.

Tabelle 10 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden a.p.: 114, 108, 102, 96, 84, 72, 66

Kuh V2-	S.g.-Applik.	Vor S.g.-Applik.	114 h a.p.	108 h a.p.	102 h a.p.	96 h a.p.	84 h a.p.	72 h a.p.	66 h a.p.
-1	12 h a.p.	2,94							
-2	120 h a.p.	2,44	2,34	2,70		2,54		2,96	
-3	72 h a.p.	2,52							2,56
-4	54 h a.p.	2,50							
-5	108 h a.p.	2,18			1,54	2,10	1,52	2,00	
-6	6,5 h a.p.	1,54							
-7	7 h a.p.	2,20							
-8	6 h a.p.	2,52							
-9	7 h a.p.	2,58							
-10	10 h a.p.	2,10							
-11	18 h a.p.	2,50							
-12	24 h a.p.	2,22							
MW		2,37		2,70	1,54	2,32	1,52	2,48	2,56
SD		0,34							

Tabelle 11 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden a.p.: 60, 48, 42, 36, 24, 18, 12, 6

Kuh V2-	60 h p.p.	48 h a.p.	42 h a.p.	36 h a.p.	24 h a.p.	18 h a.p.	12 h a.p.	6 h a.p.
-1								
-2	3,04	2,78		3,08	3,08		3,50	3,08
-3	2,54	2,06		2,54	2,36		3,00	2,50
-4		2,30	2,60	2,42	2,56		2,24	2,10
-5	2,04	2,02			1,74			
-6								
-7								
-8								
-9								
-10								
-11								2,38
-12						2,18	2,06	
MW	2,54	2,29	2,60	2,68	2,44	2,18	2,91	2,57
SD	0,50	0,35		0,35	0,55		0,67	0,38

Tabelle 12 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden p.p.: 0,5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48

Kuh V2-	0,5 h p.p.	6 h p.p.	12 h p.p.	18 h p.p.	24 h p.p.	30 h p.p.	36 h p.p.	42 h p.p.	48 h p.p.
-1	2,62	2,68	2,74		3,66	3,14			3,12
-2	2,60	2,36	2,12	2,02	2,32	2,54			2,36
-3	1,96	2,06	1,88		1,94	2,10			1,92
-4	2,34	2,56	2,22	1,92	2,24	2,60		2,36	
-5	1,90	1,94							1,92
-6	1,72	1,66		1,56		1,80		1,54	
-7	2,00	2,04		1,88		2,14		2,1	
-8	2,04	2,38		2,36		2,36		2,00	
-9	1,80	1,70	2,74	2,52		2,28		2,58	
-10	2,40		2,16		2,46		2,58		2,92
-11	2,32	2,30		2,74		2,32		2,74	
-12	2,24	2,30	2,66		2,28		1,84		2,04
MW	2,15	2,17	2,31	2,14	2,52	2,36	2,58	2,22	2,45
SD	0,30	0,33	0,35	0,41	0,60	0,38	0,52	0,43	0,53

Tabelle 13 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden: p.p. 54, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96

Kuh V2-	54 h p.p.	60 h p.p.	66 h p.p.	72 h p.p.	78 p.p.	84 h p.p.	90 h p.p.	96 h p.p.
-1				3,86				3,08
-2		1,92		1,94				2,06
-3				1,86				1,84
-4	2,40		2,12		2,30			
-5						2,60		
-6	1,90		2,10		2,20			
-7	2,14		1,98		2,02			
-8	2,72		1,76		2,04		1,90	
-9	2,14		2,42		2,36			
-10		2,84		2,46				
-11	2,66		2,88					
-12		1,98		1,86				
MW	2,33	2,38	2,21	2,53	2,18	2,60	1,90	2,33
SD	0,32	0,51	0,39	0,86	0,15			0,66

4.2.1.2 Hauptversuch

Serumcalciumgehalt der Solanum- Gruppe

In Tabelle 14 ist der Serumcalciumgehalt (mmol/l) der Probanden der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. im Falle des Festliegens vor der Infusion einer Calciumborogluconatlösung dargestellt.

Bei Kuh S5 konnte ein Absinken des Serumcalciumgehalts bis 1,7 mmol/l zum Zeitpunkt 12 h p.p. festgestellt werden. Bei diesem Tier war Retentio secundinarum zu beobachten. Kuh S7 zeigte ein Absinken des Calciumgehalts zum Zeitpunkt 12 h p.p. bis auf 1,2 mmol/l. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Kuh eine Calciumborogluconatlösung (750 ml i.v.) appliziert, da das Tier Festliegen zeigte. Bei Kuh S8 lag der Serumcalciumspiegel 12 h p.p. und 72 h p.p. bei 1,6 mmol/l ohne dass klinische Symptome sichtbar waren. Bei allen anderen Tieren sank der Calciumgehalt maximal bis auf 1,8 mmol/l ab. Auch bei Kuh S2, welche bereits nach der Geburt zum Festliegen kam, waren die Serum-Calciumwerte immer > 1,9mmol/l.

Zum Zeitpunkt a.p. lag der Mittelwert der Solanumgruppe bei 2,1 mmol/l (SD $\pm 0,13$), 0,5 h p.p. bei 2,1 mmol/l (SD $\pm 0,39$) und sank 12 h p.p. auf 1,9 mmol/l (SD $\pm 0,32$) ab. 72 h p.p. stieg der Mittelwert wieder auf 2,2 mmol/l (SD $\pm 0,32$) an.

Tabelle 14 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der S.g.-Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	Vor Infusion	72 h p.p.
S1	36 h a. p.	2,10	2,22			1,90
S2	66 h a. p.	2,14	1,92		1,92	
S3	50 bis 54 h a.p.	1,86	3,06			2,64
S4	28 bis 30 h a.p.	2,08	2,54			2,32
S5	71 h a.p.	2,12	1,84	1,70		2,50
S6	26 h a.p.	1,92	1,88	1,94		1,86
S7	34 bis 38 h a.p.	2,08	1,52	1,20	1,20	
S8	28 bis 30 h a.p.	2,16	1,94	1,56		1,58
S9	48 h a.p.	1,92	1,98	2,10		2,06
S10	50 bis 54 h a.p.	2,20	2,16	2,16		2,24
S11	34 bis 38 h a.p.	2,20	2,24	2,10		2,46
S12	26 h a.p.	2,19	2,11	2,07		2,16
S13	24 h a.p.	2,34	1,78	1,94		2,34
MW		2,10	2,09	1,86		2,19
SD		0,13	0,39	0,32		0,32

Serumcalciumgehalt der Bovicalc®- Gruppe

Tabelle 15 zeigt den Serumcalciumgehalt (mmol/l) der Probanden der Bovicalc®-Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. im Falle des Festliegens vor der Infusion mit Calciumborogluconat.

Bei Kuh B3, welche 24 h p.p. zum Festliegen kam, war der Serumcalciumgehalt bereits ante partum bei 1,76 mmol/l und sank dann 24 Stunden p.p. auf 1,5 mmol/l ab.

Der Calciumspiegel von Kuh B4 lag 0,5 h p.p. bei 1,5 mmol/l und stieg 72 h p.p. wieder auf 2,0 mmol/l an.

Die Kühe B10 und B11 hatten 0,5 h p.p. bzw. 12 h p.p. Calciumwerte von 1,7 mmol/l, welche aber dann 72 h p.p. auf >2,0 mmol/l anstiegen. Bei allen anderen Tieren lag der Calciumspiegel zu keinem Zeitpunkt niedriger als 1,8 mmol/l.

Der mittlere Calciumgehalt der Bovicalc®-Gruppe lag zum Zeitpunkt a.p. bei 2,1 mmol/l (SD ±0,26), sank dann 0,5 h p.p. auf 1,9 mmol/l ab (SD±0,26) und

lag zum Zeitpunkt 12 h p.p. ebenso bei 1,9 mmol/l (SD±0,26). 72 h p.p. stieg der mittlere Calciumgehalt auf 2,2 mmol/l (SD ±0,26) an.

Tabelle 15 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der B. - Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	vor Infusion	72 h p.p.
B1	12 h a.p.	2,00	2,20			2,38
B2	12 h a.p.	1,90	1,76			2,46
B3	18 bis 20 h a.p.	1,76	1,68		1,50	
B4	12 h a.p.	1,80	1,46			2,00
B5	18 bis 20 h a.p.	2,44	2,00			1,98
B6	22 bis 24 h a.p.	1,98	2,16			2,66
B7	18 bis 20 h a.p.	2,44	1,94	2,28		2,44
B8	13 h a.p.	2,38	2,18	2,24		1,82
B9	15 bis 17 h a.p.	2,02	2,18	2,30		2,04
B10	22 bis 24 h a.p.	2,22	1,72	1,72		2,04
B11	18 bis 20 h a.p.	2,38	1,68	1,78		2,05
B12	15 bis 17 h a.p.	1,86	2,16	2,02		2,30
MW		2,10	1,93	1,86	1,50	2,19
SD		0,26	0,26	0,26		0,26

Vergleich des Serumcalciumgehalts der Solanum- Gruppe und der Bovicalc®-Gruppe

Tabelle 16 zeigt die mittleren Calciumgehalte (MW ± SD) im Serum von Solanum- Gruppe und Bovicalc®-Gruppe auf. Bei beiden Gruppen waren die mittleren Calciumgehalte zu jedem Blutentnahmezeitpunkt >1,86 mmol/l. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen konnten zu keinem der Blutentnahmezeitpunkte beobachtet werden.

Tabelle 16 Vergleich des Serumcalciumgehalts von Solanum- Gruppe und Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. (MW ± SD)

Serum- Ca (mmol/ l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p.		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe (n=13)	2,10	±0,13	2,09	±0,39	1,86	±0,32	2,19	±0,32
Bovicalc®- Gruppe (n=12)	2,10	±0,26	1,93	±0,26	1,86	±0,26	2,19	±0,26

Vergleich des Serumcalciumgehalts der beiden Gruppen sortiert nach Anzahl der Kalbungen

Die beiden Gruppen wurden nach Anzahl der Kalbungen sortiert und untereinander verglichen (Tabelle 17). Nur in der Solanum- Gruppe, 6.-8. Kalbung lag der mittlere Calciumgehalt zum Zeitpunkt 12 h p.p. bei 1,84 mmol/l. Bei den anderen Gruppen war der mittlere Calciumgehalt zu allen Zeitpunkten >1,9 mmol/l. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen nach Anzahl der Kalbungen sortierten Gruppen festgestellt werden.

Tabelle 17 Vergleich des Serumcalciumgehalts von Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)

Serum- Ca (mmol/ l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p.		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe, 3.-5. Kalbung	2,05	±0,13	2,28	±0,46	1,90	±0,19	2,23	±0,32
Solanum- Gruppe, 6.-8. Kalbung	2,15	±0,13	1,93	±0,24	1,84	±0,38	2,14	±0,34
Bovicalc®-Gruppe, 3.-5.Kalbung	2,24	±0,27	1,91	±0,27	2,10	±0,28	2,11	±0,24
Bovicalc®-Gruppe, 6.-8. Kalbung	1,96	±0,16	1,94	±0,25	2,01	±0,29	2,30	±0,27

4.2.2 Phosphatgehalt im Serum

Der Referenzbereich des Serumphosphatgehalts liegt bei 1,6-2,3 mmol/l (Kraft und Dürr, 1999).

Serumphosphatgehalt der Solanum- Gruppe

Tabelle 18 listet die einzelnen Phosphatwerte im Serum (mmol/l) der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. im Falle des Festliegens vor einer Infusion einer Calciumborogluconat-lösung auf. Dabei ist auffällig, dass folgende Kühe Phosphatwerte unterhalb des Referenzbereichs von 1,6 mmol/l aufweisen, ohne dass dies mit Festliegen verbunden war: S1, S9, S11. Bei diesen Tieren sanken die Werte unter 1,2 mmol/l ab.

Die Kühe S2 und S7 zeigten Symptome des Festliegens, wobei der Serumphosphatgehalt von Kuh S2 vor der Infusion bei 1,4 mmol/l lag und bei Kuh S7 sogar bis 0,95 mmol/l absank.

Bei den übrigen Tieren war der Phosphatgehalt zu allen Blutentnahmezeitpunkten >1,6 mmol/l.

Die mittleren Phosphatgehalte lagen zum Zeitpunkt a.p. bei 2,0 mmol/l (SD±0,32), sanken zu den Zeitpunkten 0,5 h p.p. und 12 h p.p. auf 1,8 mmol/l (SD±0,32 bzw. ±0,52) ab und stiegen 72 h p.p. wieder an (MW 2,1 mmol/l, SD ±0,22).

Tabelle 18 Serumphosphatgehalt (mmol/l) der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der S.g.- Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	vor Infusion	72 h p.p.
S1	36 h a. p.	1,34	1,46			2,20
S2	66 h a. p.	1,97	1,42		1,42	
S3	50 bis 54 h a.p.	1,86	1,71			2,33
S4	28 bis 30 h a.p.	1,90	2,16			2,07
S5	71 h a.p.	1,89	1,78	1,94		1,88
S6	26 h a.p.	2,42	2,30	1,97		2,16
S7	34 bis 38 h a.p.	1,87	1,68	0,95	0,95	
S8	28 bis 30 h a.p.	1,80	1,65	1,73		1,87
S9	48 h a.p.	1,52	1,21	1,21		1,87
S10	50 bis 54 h a.p.	2,42	2,28	2,00		2,02
S11	34 bis 38 a.p.	2,13	1,67	1,36		1,64
S12	26 h a.p.	2,03	2,17	2,54		2,33
S13	24 h a.p.	2,30	2,40	2,30		2,27
MW		1,96	1,84	1,78		2,06
SD		0,32	0,38	0,52		0,22

Serumphosphatgehalt der Bovicalc®-Gruppe

In Tabelle 19 werden die Serumphosphatgehalte (mmol/ l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. der Serumphosphatwert vor einer Calciumborogluconatinfusion aufgeführt.

Deutlich unterhalb des Referenzbereiches (1,6- 2,3 mmol/l) lag dieser nur bei Kuh B3, welche zum Festliegen kam. Bereits 0,5 h p.p. lag der Phosphatwert bei 1,4 mmol/l und direkt vor der Infusion bei 1,28 mmol/l.

Die Kühe B4, B7 und B10 wiesen Phosphatwerte bis zu 1,4 mmol/l auf, zeigten aber keine Anzeichen von drohendem Festliegen.

Bei den übrigen Tieren lag der Serumphosphat Spiegel zu allen Blutentnahmezeitpunkten >1,6mmol/l.

Die mittleren Phosphatgehalte der Bovicalc®- Gruppe lagen a.p. und 0,5 h p.p. bei 1,9 mmol/l (SD \pm 0,23 bzw. \pm 0,38) und stiegen zu den Zeitpunkten 12 h p.p. und 72 h p.p. auf 2,0 mmol/l an (SD \pm 0,24 bzw. \pm 0,34).

Tabelle 19 Serumphosphatgehalt (mmol/l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. , 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der B.-Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	vor Infusion	72 h p.p.
B1	12 h a.p.	1,94	1,86			2,28
B2	12 h a.p.	1,90	1,65			1,96
B3	18 bis 20 h a.p.	1,76	1,44		1,28	
B4	12 h a.p.	1,63	1,62			1,84
B5	18 bis 20 h a.p.	1,82	1,57			2,35
B6	22 bis 24 h a.p.	2,29	2,00			2,46
B7	18 bis 20 h a.p.	2,18	1,93	1,72		1,46
B8	13 h a.p.	1,58	2,14	1,89		1,62
B9	15 bis 17 h a.p.	1,92	2,16	2,16		2,40
B10	22 bis 24 h a.p.	1,98	1,52	1,90		1,75
B11	18 bis 20 h a.p.	2,25	2,02	2,38		2,14
B12	15 bis 17 h a.p.	2,11	2,33	2,20		1,80
MW		1,95	1,85	2,04		2,01
SD		0,23	0,29	0,24		0,34

Vergleich des Serumphosphatgehalts der beiden Gruppen

Tabelle 20 zeigt die mittleren Phosphatgehalte im Serum (MW ± SD) der beiden Gruppen zu jedem Zeitpunkt einer Blutentnahme. Diese lagen zu allen Zeitpunkten vor und nach der Geburt innerhalb des Referenzbereichs (1,6 bis 2,3 mmol/l). Signifikante Unterschiede zwischen der Solanum-Gruppe und der Bovicalc®- Gruppe konnten nicht beobachtet werden.

Tabelle 20 Vergleich des Serumphosphatgehalts (mmol/l) von Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. (MW ± SD)

Serum-P (mmol/l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p.		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe (n=13)	1,96	±0,32	1,84	±0,38	1,78	±0,52	2,06	±0,22
Bovicalc®- Gruppe (n=12)	1,95	±0,23	1,85	±0,29	2,04	±0,24	2,01	±0,34

Vergleich des Serumphosphatgehalts der beiden Gruppen sortiert nach Anzahl der Kalbungen

Die beiden Gruppen wurden nach Anzahl der Kalbungen unterteilt und die Serumphosphatgehalte miteinander verglichen (Tabelle 21).

Auch hier lagen die mittleren Phosphatgehalte innerhalb des Referenzbereichs (1,6 mmol/l- 2,3 mmol/l). Allerdings ist bei Kühen der Solanum- Gruppe mit 6. bis 8. Kalbung zum Zeitpunkt 12 h p.p. auffällig, dass der Mittelwert an der unteren Grenze des Referenzbereichs liegt, während die mittleren Phosphatgehalte zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p. und 72 h p.p. >1,8 mmol/ l liegen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten auch hier nicht beobachtet werden.

Tabelle 21 Vergleich des Serumphosphatgehaltes (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit der Bovicalc®- Gruppe, unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)

Serum-P (mmol/l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe, 3.-5. Kalbung	1,91	±0,35	1,93	±0,33	2,15	±0,34	2,16	±0,17
Solanum- Gruppe, 6.-8. Kalbung	2,00	±0,31	1,76	±0,43	1,59	±0,51	1,93	±0,23
Bovicalc®-Gruppe, 3.-5.Kalbung	1,90	±0,28	1,86	±0,22	2,00	±0,34	1,95	±0,36
Bovicalc®-Gruppe, 6.-8. Kalbung	1,99	±0,18	1,85	±0,36	2,09	±0,16	2,07	±0,33

4.2.3 Magnesiumgehalt im Serum

Der Referenzbereich des Serummagnesiumgehalts liegt nach Kraft und Dürr (1999) bei 0,8 mmol/l bis 1,3 mmol/l.

Serummagnesiumgehalt der Solanum- Gruppe

In Tabelle 22 werden die einzelnen Serummagnesiumgehalte der Solanum-Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. vor einer Calciumborogluconatinfusion dargestellt.

Dabei ist auffällig, dass der Serummagnesiumgehalt bei Kuh S5 zu allen Zeitpunkten unterhalb des Referenzbereichs von 0,8 mmol/l bis 1,3 mmol/l lag.

Der Magnesiumgehalt von Kuh S6 lag zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. an der unteren Grenze des Referenzbereichs und sank 72 h p.p. auf 0,5 mmol/l ab. Bei Kuh S 7 war a.p. ein Magnesiumgehalt von 0,7 mmol/l zu beobachten, der dann aber 0,5 h p.p. wieder innerhalb des Referenzbereichs anstieg. Dieses Tier kam 12 h p.p. zum Festliegen.

Bei Kuh S12 lag der Serummagnesiumgehalt zu allen Zeitpunkten geringfügig unterhalb des Referenzbereichs.

Die Serummagnesiumgehalte aller übrigen Tiere lagen zu allen Blutentnahmezeitpunkten innerhalb des Referenzbereichs.

Die mittleren Serummagnesiumgehalte der Solanum- Gruppe lagen a.p. und 12 h p.p. bei 0,9 mmol/l (SD $\pm 0,18$ bzw. $\pm 0,19$) und sanken 12 h und 72 h auf 0,8 mmol/l ab (SD $\pm 0,25$ bzw. $\pm 0,24$)

Tabelle 22 Serummagnesiumgehalt (mmol/l) der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der S.g.- Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	vor Infusion	72 h p.p.
S1	36 h a. p.	0,79	0,79			0,86
S2	66 h a. p.	0,85	0,92		0,92	
S3	50 bis 54 h a.p.	0,94	0,99			0,84
S4	28 bis 30 h a.p.	1,05	0,87			1,04
S5	71 h a.p.	0,60	0,43	0,54		0,36
S6	26 h a.p.	0,86	0,77	0,73		0,51
S7	34 bis 38 h a.p.	0,73	0,88	0,98	0,98	
S8	28 bis 30 h a.p.	0,91	0,96	0,83		1,07
S9	48 h a.p.	1,32	1,17	1,41		1,27
S10	50 bis 54 h a.p.	0,79	0,82	0,75		0,78
S11	34 bis 38 h a.p.	0,80	0,92	0,77		0,88
S12	26 h a.p.	0,71	0,65	0,58		0,77
S13	24 h a.p.	1,01	1,10	0,84		0,78
MW		0,87	0,87	0,83		0,83
SD		0,18	0,19	0,26		0,24

Serummagnesiumgehalt der Bovicalc®- Gruppe

Tabelle 23 listet den Serummagnesiumgehalt (mmol/l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. bzw. vor einer Infusion mit Calciumborogluconat auf.

Dieser war bei den Tieren B3, B4, B5, B6, B9 geringfügig unterhalb des Referenzbereichs (0,8- 1,3 mmol/l).

Der Serummagnesiumspiegel der anderen Probanden lag zu allen Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches.

Die mittleren Serummagnesiumgehalte lagen zu allen Blutentnahmezeitpunkten bei 0,9 mmol/l (\pm SD: a.p. \pm 0,13, 0,5 h p.p. \pm 0,11, 12 h p.p. \pm 0,09, 72 h p.p. \pm 0,13).

Tabelle 23 Serummagnesiumgehalt (mmol/l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion

Kuh	Zeitpunkt der B.-Applikation	a.p.	0,5 h p.p.	12 h p.p.	vor Infusion	72 h p.p.
B1	12 h a.p.	0,95	0,88			1,06
B2	12 h a.p.	0,86	0,84			0,84
B3	18 bis 20 h a.p.	0,77	0,79		0,71	
B4	12 h a.p.	1,05	1,05			0,72
B5	18 bis 20 h a.p.	0,65	0,73			0,72
B6	22 bis 24 h a.p.	0,79	0,75			0,73
B7	18 bis 20 h a.p.	0,94	0,91	0,92		0,92
B8	13 h a.p.	0,94	0,91	0,93		0,93
B9	15 bis 17 h a.p.	0,84	0,84	0,75		0,71
B10	22 bis 24 h a.p.	0,98	1,02	1,02		0,87
B11	18 bis 20 h a.p.	0,96	1,04	0,94		0,95
B12	15 bis 17 h a.p.	1,12	1,02	0,90		1,07
MW		0,91	0,90	0,91		0,87
SD		0,13	0,11	0,09		0,13

Vergleich der mittleren Serummagnesiumgehalte von Solanum- Gruppe und Bovicalc®- Gruppe

Tabelle 24 zeigt die mittleren Serummagnesiumgehalte der beiden Gruppen zu jedem Blutentnahmezeitpunkt vor und nach der Geburt im Vergleich (MW \pm SD). Die Mittelwerte lagen zu allen Zeitpunkten bei beiden Gruppen innerhalb des Referenzbereichs (0,8- 1,3 mmol/l). Signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren zu keinem Zeitpunkt festzustellen.

Tabelle 24 Vergleich des Serummagnesiumgehalts (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. (MW \pm SD)

Serum-Mg (mmol/l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p.		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe (n=13)	0,87	\pm 0,18	0,87	\pm 0,19	0,82	\pm 0,26	0,83	\pm 0,24
Bovicalc®-Gruppe (n=12)	0,91	\pm 0,13	0,90	\pm 0,11	0,91	\pm 0,09	0,87	\pm 0,13

Vergleich des Serummagnesiumgehalts der beiden Gruppen sortiert nach Anzahl der Kalbungen

Die beiden Gruppen wurden nach Anzahl der Kalbungen, 3. bis 5. Kalbung und 6. bis 8. Kalbung, unterteilt und die mittleren Serummagnesiumgehalte beider Gruppen am jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt miteinander verglichen. Dabei ist auffällig, dass bei den Kühen der Solanum- Gruppe mit 3. bis 5. Kalbung der Mittelwert zu den Zeitpunkten 12 h und 72 h p.p. geringfügig unterhalb des Referenzbereichs (0,8-1,3 mmol/l) lag.

Bei den übrigen Gruppen lag der Mittelwert zu allen Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereichs. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten zu keinem Zeitpunkt einer Blutentnahme beobachtet werden.

Tabelle 25 Vergleich des Serummagnesiumgehalts (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit der Bovicalc®- Gruppe, unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)

Serum-Mg (mmol/l)	a.p.		0,5 h p.p.		12 h p.p.		72 h p.p.	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Solanum- Gruppe, 3.-5. Kalbung	0,82	±0,16	0,75	±0,19	0,62	±0,10	0,73	±0,25
Solanum- Gruppe, 6.-8. Kalbung	0,91	±0,20	0,97	±0,13	0,93	±0,25	0,95	±0,21
Bovicalc®-Gruppe, 3.-5.Kalbung	0,92	±0,13	0,92	±0,12	0,93	±0,01	0,89	±0,13
Bovicalc®-Gruppe, 6.-8. Kalbung	0,89	±0,13	0,88	±0,11	0,89	±0,14	0,84	±0,14

4.3 Weender-Analyse und Bestimmung des Mineralstoffgehalts des Futters

4.3.1 Weender-Analyse des Futters

In 6 der 23 beteiligten Betriebe wurde die Zusammensetzung der TMR, welche die Tiere im präpartalen Zeitraum erhielten, analysiert. Es wurden Trockensubstanz (TS), der Rohproteingehalt (Rpr), der Rohfettgehalt (Rf), der Rohfaser- sowie der Rohaschegehalt bestimmt. Die mittleren Gehalte (MW, \pm SD) sind in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26 Nährstoffgehalte (MW \pm SD) im Futter nach Weender-Analyse

TS (%)		Rpr (%)		Rfe (%)		Rfa (%)		Ra (%)	
MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
42,8	$\pm 0,1$	12,6	$\pm 0,02$	3,21	$\pm 0,49$	18,4	$\pm 0,65$	7,58	$\pm 1,44$

4.3.2 Bestimmung des Mineralstoffgehalts des Futters

Bestimmt wurden der Calcium-, der Phosphor- und der Magnesiumgehalt des Futters. Die mittleren Gehalte (MW, \pm SD) sind in Tabelle 27 dargestellt

Tabelle 27 Gehalt (MW \pm SD) an Ca, P und Mg im Futter

Ca (g/kg)		P (g/kg)		Mg (g/kg)	
MW	SD	MW	SD	MW	SD
0,63	$\pm 0,10$	0,41	$\pm 0,07$	2,45	$\pm 0,64$

5 Diskussion

5.1 Studiendesign

5.1.1 Auswahl der Probanden

5.1.1.1 Vorversuch

Für die Vorversuche 1a und 1b wurden drei nichtträchtige, laktierende Kühe ausgewählt, welche nicht mehr belegt werden sollten.

Die Probanden für den Vorversuch sollten mindestens das 2. Kalb erwarten und noch nie an Gebärparese erkrankt sein, um den Verlauf des Serum-Calciumspiegels bei nicht prädisponierten Tieren zu erfassen.

Aufgrund der Häufigkeit der Blutentnahmen wurden für die Vorversuche vier Betriebe in der unmittelbaren Umgebung ausgewählt. Als weiteres Auswahlkriterium galt für die Vorversuche die Kooperationsbereitschaft der Besitzer, da sehr viele Blutentnahmen durchgeführt werden mussten, so dass Verständnis seitens der Besitzer für diese Studie vorhanden sein musste. Auf Anfrage teilte die Regierung von Oberbayern mit, dass für die Durchführung der Studie keine Tierversuchsgenehmigung erforderlich ist.

5.1.1.2 Hauptversuch

Jeder Proband des Hauptversuches sollte in vorhergehenden Laktationen mindestens einmal an Gebärparese erkrankt sein, da bei solchen Tieren das Risiko zu erkranken um mehr als das 3fache erhöht ist (Roche and Berry, 2006).

Desweiteren sollten alle Tiere des Hauptversuchs mindestens das 3. Kalb erwarten (vgl. Abbildung 3).

Verteilung der Anzahl der Kalbungen der Probanden

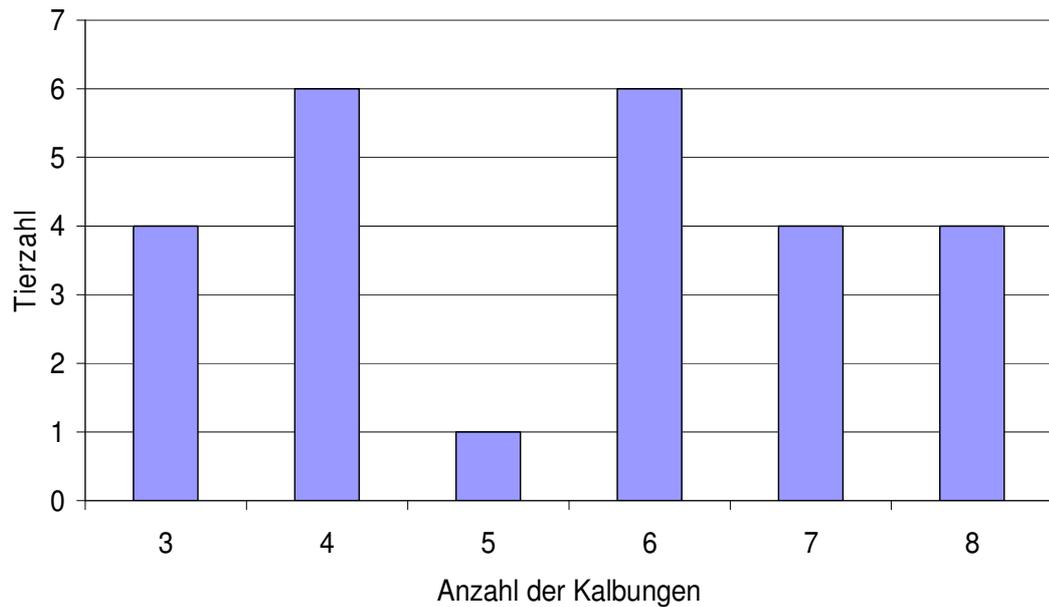


Abbildung 3 Verteilung der Anzahl der Kalbungen der Probanden des Hauptversuchs

Andere prädisponierende Faktoren, wie Milchleistung, Ernährungszustand, Rationsgestaltung und Rasse, konnten bei der Vorauswahl der Probanden nicht berücksichtigt werden, wurden jedoch bei der Durchführung der Studie erfasst.

In Abbildung 4 ist die Verteilung der Jahresmilchleistung in der vorhergehenden Laktation der Probanden des Hauptversuchs dargestellt.

Milchleistungsverteilung der Probanden

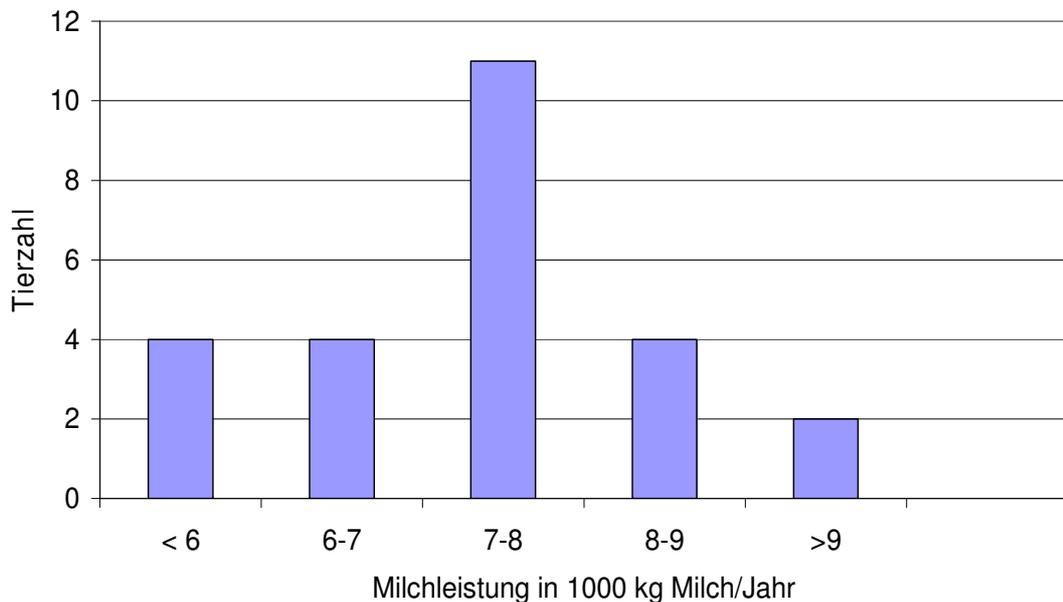


Abbildung 4 Milchleistungsverteilung der Probanden des Hauptversuches

5.1.2 Ablauf der Studie

Von den ursprünglich für den Hauptversuch ausgewählten 79 Tieren erhielten 43 Tiere einmalig *Solanum glaucophyllum*. 36 Tiere wurden mit Bovicalc® nach Dosierungsempfehlung des Herstellers (4 Boli) behandelt. Nicht bei allen für die Studie ausgewählten Tieren erfolgte die Kalbung innerhalb des vorgegebenen Zeitfensters von 24 -72 h nach der *Solanum*-Applikation bzw. 12-24 h nach dem ersten Bovicalc®-Bolus. Aus diesem Grunde konnte nur etwa ein Drittel aller ursprünglich ausgewählten Probanden in die statistische Auswertung eingehen.

Ein Tier, welches *Solanum glaucophyllum* erhielt, ging nicht in die statistische Auswertung ein, obwohl es innerhalb des vorgegebenen Zeitraumes kalbte. Diese Kuh zeigte etwa 24 Stunden post partum Ankonäenzittern und schwerfälliges Aufstehen, sodass der Landwirt eine Behandlung durch den Hoftierarzt vornehmen ließ. Hierbei wurde Calciumborogluconat infundiert, sodass nur Blutentnahmen a.p., p.p. und vor der Infusion erfolgen konnten. Alle laborchemischen Parameter, insbesondere der Serumcalciumwert,

befanden sich zu jedem Zeitpunkt einer Blutentnahme innerhalb des jeweiligen Referenzbereiches, so dass die klinischen Erscheinungen nicht auf eine Milchfiebererkrankung zurückgeführt werden können. Die Ursache der Krankheitssymptome liegt bei dieser Kuh in einer im Rahmen dieser Studie nicht näher untersuchten Erkrankung.

5.1.3 Haltung und Fütterung der Tiere

Da die vorliegende Studie als Feldversuch durchgeführt wurde, sind die Bedingungen in Haltung und Fütterung grundsätzlich nicht standardisiert. Die 26 Tiere aus den beiden Gruppen standen in 23 verschiedenen Betrieben und wurden entweder in Anbindehaltung oder im Laufstall gehalten. Dadurch sind keine standardisierten Haltungsbedingungen gegeben. Obwohl die Nährstoffgehalte des Futters weitgehend einheitlich waren, ist davon auszugehen, dass über den Jahresverlauf Variationen in den Nährstoffgehalten auftreten. Eine Ursache hierfür ist die Witterungsabhängigkeit der Grundfuttergewinnung, welche für zeitliche Unterschiede in den Aufwuchsstadien bei Gewinnung verantwortlich ist.

5.1.4 Praktische Durchführung der Studie im Rahmen eines Feldversuchs

Als einer der Hauptkritikpunkte ist generell die Bestimmung des Geburtszeitpunktes anzusehen. Wie Vorversuch 2 zeigt, sind große individuelle Schwankungen beim Auftreten der ersten Geburtsanzeichen möglich. Auch die ursprüngliche Tierzahl von 79 Probanden, von welchen nur 26 Tiere innerhalb der angestrebten Zeitfenster abkalbten, bestätigt dies. In einer weiteren Studie wäre zu prüfen, ob eine wiederholte Applikation von *Solanum glaucophyllum* 72 h nach der ersten Verabreichung dieses Problem einer sich verzögernden Geburt umgehen könnte, ohne dass hierdurch unerwünschte Nebeneffekte auftreten.

Zur Verabreichung der Produkte an die Kühe ist zu erwähnen, dass Bovicalc® durch die erforderliche vierfache Applikation ein wesentlich

arbeitsintensiveres Verfahren darstellt und die Benutzung des Boluseingebers besonders für ältere Landwirte abschreckend wirkt.

Allerdings ist durch eine Applikation des Bolus mittels des Boluseingebers sichergestellt, dass die Kuh den Bolus tatsächlich aufgenommen hat.

Da es sich bei dem *Solanum glaucophyllum*-Produkt, wie in dieser Studie erstmalig geprüft wurde, um eine einmalige Anwendung handelt, ist diese Art der Vorbeugung einer hypocalcämischen Gebärparese wesentlich weniger arbeitsaufwendig und damit wirtschaftlich rentabler. Zudem besteht bei *Solanum glaucophyllum* die Möglichkeit, die *Solanum glaucophyllum*-Kapseln mit Kraftfutter vermischt zu verabreichen, so dass die Anwendung eines Boluseingebers nicht nötig ist. Allerdings muss die optimale Applikationsart in weiteren Studien noch geprüft werden. Da in dieser Studie das *Solanum glaucophyllum*-Produkt erstmalig angewendet wurde, wurde es in Gelatine- Kapseln abgefüllt. Aufgrund der manuellen Befüllung der Gelatine- Kapseln mit dem hygroskopischen *Solanum glaucophyllum*-Produkt ist deren Lagerung im Exsikkator erforderlich, sodass diese nicht für die Anwendung durch den Landwirt geeignet sind. Für einen kommerziellen Vertrieb ist die in dieser Pilotstudie gewählte Applikationsform wenig geeignet und müsste optimiert werden.

Da die Verabreichung 24 bis 72 Stunden ante partum stattfinden sollte, und die Tiere in diesem Zeitraum vor der Geburt das ihnen zugeteilte Kraftfutter meist gerne aufnehmen, erscheint eine Applikation des *Solanum glaucophyllum*- Produkts im Rahmen der Kraftfüttergabe auch für das Tier als nicht unangenehm. Sollte allerdings bei einer Kuh Inappetenz im präpartalen Zeitraum auftreten, wäre ein ähnlicher Eingeber wie bei Bovicalc® sinnvoll. Hier besteht Bedarf zur Entwicklung eines solchen Gerätes und einer geeigneten Applikationsform.

5.2 Wahl der Beurteilungskriterien

Um die Eignung eines einmaligen *Solanum glaucophyllum*-Bolus zur Prophylaxe einer hypocalcämischen Gebärparese zu prüfen, wurden in

Anlehnung an die Untersuchungen von Fricke (1985) und Buchelt (1986) die Beurteilungskriterien ausgewählt. Zusätzlich zur Erfassung von klinischen Symptomen einer hypocalcämischen Gebärpause wurde der Gehalt an Calcium, Phosphat und Magnesium im Serum im Verlauf vor der Geburt bis 72 h p.p. bestimmt. Der Vorteil dieser Parameter liegt neben einer Objektivierung der Diagnose in deren schnellen Bestimmbarkeit, vor allem auch unter Praxisbedingungen im Rahmen eines Feldversuchs.

5.3 Klinische Erscheinungen

5.3.1 Vorversuche

Vorversuche 1a und 1b

Bei allen drei Tieren dieser Vorversuche wurden nach Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* keinerlei Auffälligkeiten beobachtet. Bei den im Rahmen dieser Feldstudie möglichen Untersuchungen wie Allgemeinbefinden, Milchleistung und Ernährungszustand, jedoch ohne anschließende Sektion der Tiere konnten durch eine Applikation von *Solanum glaucophyllum* in der hier gewählten Dosierung von 5,0 g pro Kuh keine unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet werden.

Vorversuch 2

Zwei Kühe zeigten post partum eine Reduzierung der Futteraufnahme. Nach Dirksen und Kaufmann (1978) ist dies im postpartalen Zeitraum häufig zu beobachten, so dass Milchfieber sehr unwahrscheinlich die Ursache der reduzierten Futteraufnahme ist. Dies wird durch die Serumcalciumgehalte bestätigt, die fast zu allen Blutentnahme- Zeitpunkten $>1,9$ mmol/l waren.

Weiterführende Untersuchungen (z. B. Bestimmung von AST und Bilirubin, um eine beginnende Leberschädigung abzuklären) wurden im Rahmen dieser Untersuchung nicht durchgeführt.

Bei zwei weiteren Tieren war Retentio secundinarum zu beobachten. Da jedoch bei beiden Tieren die Serumcalciumgehalte innerhalb des Referenzbereichs lagen, ist anzunehmen, dass die Retentio secundinarum nicht auf hypocalcämische Zustände zurückzuführen ist, sondern andere Ursachen, wie z.B. mechanische Behinderungen des Abgangs der Eihäute oder Störungen des Lockerungsvorgangs in den Eihäuten (Götze, 1941), hatte.

5.3.2 Hauptversuch

In beiden Gruppen war je ein Fall einer typischen Milchfiebererkrankung zu beobachten. Die klinischen Symptome und der Verlauf des Calcium- und Phosphatspiegels im Serum waren in beiden Fällen identisch.

Desweiteren war sowohl in der Versuchsgruppe als auch in der Vergleichsgruppe bei je einer Kuh eine Reduzierung der Futteraufnahme im postpartalen Zeitraum zu beobachten. Allerdings ist dies bei älteren Tieren in Verbindung mit einer Hypomotilität des Verdauungstraktes häufig zu beobachten (Dirksen und Kaufmann, 1978), so dass dies in Verbindung mit dem Serum-Calciumspiegel, der in beiden Fällen innerhalb des Referenzbereichs lag, nicht als Symptom einer Milchfiebererkrankung zu betrachten ist.

Sowohl in der Solanumgruppe als auch in der Bovicalc®- Gruppe traten bei einzelnen Tieren Besonderheiten auf, die im Folgenden erläutert werden:

Solanum- Gruppe

Ein weiteres Tier zeigte das Symptom des Festliegens. Da jedoch in diesem Fall bei einer Blutentnahme durch den Hoftierarzt eine Erhöhung des CK-Wertes festgestellt wurde und der Serumcalciumspiegel innerhalb des

Referenzbereichs lag, ist anzunehmen, dass ein Muskelschaden nach Ausgrätschen die Ursache des Festliegens ist (Martig, 2002)

Desweiteren war bei einem Tier Retentio secundinarum zu beobachten. Ob in diesem Fall Uterusatonie infolge Hypocalcämie die Ursache der Erkrankung war oder ob andere Gründe, z.B. unreife oder überreife Plazentome, Hyperämie der Plazentome (Grunert, 1983; Paisley et al., 1986), vorlagen, konnte im Rahmen dieser Studie nicht weiter abgeklärt werden.

Bovicalc®- Gruppe

Eine Kuh zeigte im gesamten Beobachtungszeitraum schwerfälliges Aufstehen. Das Tier zeigte eine Stützbeinlahmheit der rechten Beckengliedmaße. Die Calcium- und Phosphatwerte lagen zu allen Blutentnahmezeitpunkten innerhalb des Referenzbereichs, sodass Milchfieber als Ursache des schwerfälligen Aufstehens hier unwahrscheinlich ist.

Zwei weitere Tiere erkrankten an verschiedenen Formen einer Mastitis. Da jedoch die Calcium- und Phosphatgehalte im Serum zu fast allen Blutentnahmezeitpunkten innerhalb der jeweiligen Referenzbereiche lagen, sind diese Mastitiden als davon unabhängige Erkrankungen anzusehen.

5.4 Serumcalciumspiegel

5.4.1 Serumcalciumspiegel in den Vorversuchen

Vorversuch 1a

Dieser Vorversuch zeigt, dass auch bei nichtträchtigen, laktierenden Kühen relativ große Schwankungen des Serumcalciumspiegels auftreten, obwohl während dieses Zeitraumes kein Futterwechsel stattfand und auch sonst

keine Veränderungen, wie z.B. reduzierte Futtermittelaufnahme, beobachtet werden konnten. Die Verteilung der Calciumwerte lässt keine tageszeitabhängige Schwankung erkennen.

Vorversuch 1b

Bei allen drei Kühen war bereits nach sechs Stunden ein deutlicher Anstieg des Serumcalciumspiegels zu verzeichnen. Es konnte im Rahmen dieser Feldstudie nicht geklärt werden, warum bei einer Kuh der Serumcalciumgehalt bereits 12 h nach Verabreichung wieder auf den Ausgangswert absank, während bei den anderen beiden Tieren der Calciumgehalt im Serum über den gesamten Zeitraum von 96 Stunden erhöht blieb. Unerwünschte Nebenwirkungen von *Solanum glaucophyllum* sind unwahrscheinlich, da das klinische Bild aller drei Kühe keinerlei Veränderungen aufwies. Allerdings sollten im Falle eines Wiederholungsversuchs zusätzliche Parameter wie Bilirubin, AST, Kreatinin und Harnstoff bestimmt werden, um zu überprüfen, ob Leber- und Nierenfunktion vor und nach Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* unbeeinträchtigt war.

Vorversuch 2

Der Serumcalciumspiegel lag bei nahezu allen Tieren dieses Vorversuches, vor *Solanum glaucophyllum*-Applikation $>2,1$ mmol/l, also innerhalb des Referenzbereichs (1,9 mmol/l bis 2,7 mmol/l). Es handelt sich allerdings hierbei um Tiere, die zuvor noch nie an Gebärparese erkrankt waren und somit ein deutlich geringeres Risiko hatten, daran zu erkranken. Desweiteren stellten in diesem Vorversuch über 50 % der Probanden Kühe dar, die während dieser Studie maximal das 3. Kalb erwarteten. Es waren hier also überwiegend jüngere Tiere beteiligt, so dass ein weiterer prädisponierender Faktor für eine Gebärpareseerkrankung entfällt. Dies erklärt auch die teilweise hypercalcämischen Werte bei zwei Tieren. Allerdings befand sich der Calciumspiegel im Serum bei diesen Kühen vor *Solanum glaucophyllum*-Applikation innerhalb des Referenzbereichs bzw. im hypercalcämischen

Bereich. Durch die Solanum glaucophyllum- Verabreichung fand ein Eingriff in die streng regulierte Calcium-Homöostase im Blut statt, welche bei jüngeren Tieren auch im peripartalen Zeitraum gut funktioniert. Die physiologische Hypocalcämie alter Tiere bleibt bei den jüngeren Tieren oftmals aus, so dass hier die Serumcalciumspiegel erneut anstiegen.

Bei den meisten Probanden lagen die Serumcalciumgehalte innerhalb des Referenzbereichs, sodass einzelne Calciumwerte die unterhalb des Referenzbereichs lagen, in Anbetracht des Ergebnisses von Vorversuch 1a, von untergeordneter Bedeutung sind. Besonders da keinerlei klinische Erscheinungen bei den betroffenen Kühen zu beobachten waren.

5.4.2 Serumcalciumspiegel im Hauptversuch

Zwischen den beiden Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Serumcalciumspiegels zu beobachten. Abbildung 5 zeigt den mittleren Calciumgehalt im Serum der Versuchsgruppe und der Vergleichsgruppe (MW \pm SD) zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten. Dabei fällt zum Zeitpunkt 0,5 h p.p. eine geringgradige Erhöhung des mittleren Serumcalciumspiegels der Solanum- Gruppe auf. Zu den Zeitpunkten, a.p., 12 h p.p., 72 h p.p. sind keine Unterschiede zu erkennen- diese lagen min. bei 1,9 mmol/l.

Im Gegensatz dazu werden bei Kühen, welche an Gebärpause erkranken Serumcalciumspiegel von $<1,5$ mmol/l beobachtet (Martig, 2002). Da in der vorliegenden Untersuchung ausschließliche Tiere mit einer besonderen Prädisposition für Milchfieber ausgewählt und prophylaktisch behandelt wurden, ist anzunehmen, dass die Serumcalciumgehalte dieser selektierten Tiere ohne einen Einsatz dieser präventiven Maßnahmen wesentlich niedriger liegen würden.

Auch bei der Unterteilung der beiden Gruppen nach Anzahl der Kalbungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Versuchs- und der Vergleichsgruppe (vgl. Abbildung 6). Die Tiere mit mehreren Kalbungen wiesen zwar geringfügig niedrigere Calciumwerte im Serum auf, im Gegensatz zu den jüngeren Tieren, die Calciumgehalte lagen jedoch deutlich

über 1,5 mmol/l. Das bedeutet, dass auch bei Probanden mit mehreren prädisponierenden Faktoren (Alter bzw. Anzahl der Kalbungen und vorhergehende Erkrankung an Gebärparese) der prophylaktische Einsatz von *Solanum glaucophyllum* das gleiche Ergebnis bewirkt wie der Goldstandard Bovicalc®: Verhinderung des Absinkens des Serumcalciumgehalts.

Bei einzelnen Tieren in beiden Gruppen waren zeitweise erniedrigte Calciumspiegel zu beobachten (Solanumgruppe: 3 Kühe, Bovicalc®-Gruppe: 4 Kühe), die jedoch nur in je einem Fall von Milchfieber klinisch in Erscheinung traten. Dies bestätigt, dass auch Bovicalc® nicht zu 100% Milchfieber vermeiden kann, wie auch die Studie von Gelfert et al. (2004) ergab, welche eine Verminderung der Gebärpareseinzidenz um etwa 50 % zeigte.

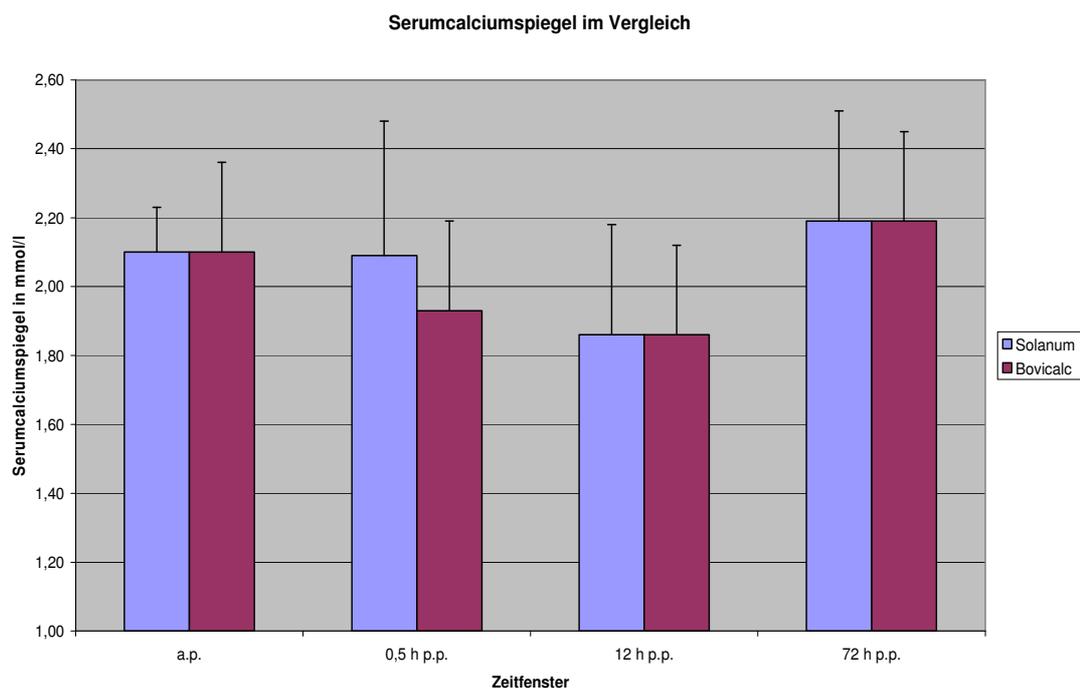


Abbildung 5 Serumcalciumspiegel in mmol/l (MW ± SD) der Kühe von Versuchs- und Vergleichsgruppe

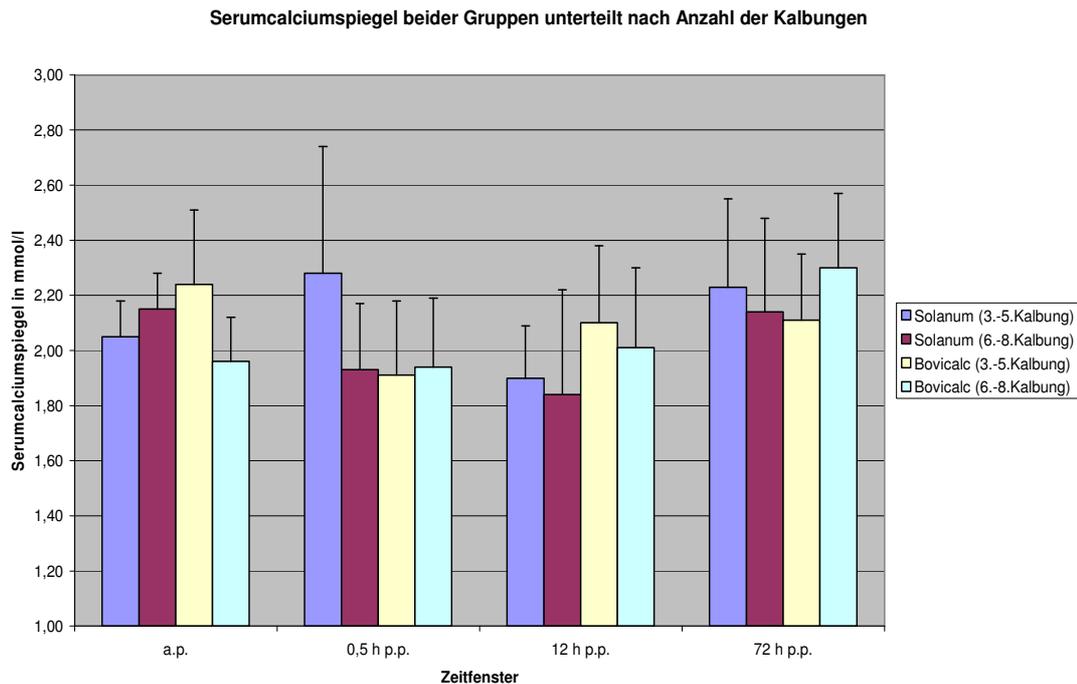


Abbildung 6 Serumcalciumspiegel in mmol/l (MW ± SD) der Kühe beider Gruppen unterteilt nach Anzahl der Kalbungen

5.5 Serumphosphatgehalt

Zwischen den beiden Versuchsgruppen war kein signifikanter Unterschied bezüglich des Phosphatgehalts im Serum zu beobachten (siehe Abbildung 7). Auch bei Unterteilung der beiden Gruppen nach Anzahl der Kalbungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (siehe Abbildung 8). In beiden Abbildungen wird deutlich, dass die mittleren Serumphosphatgehalte zu nahezu allen Blutentnahmezeitpunkten deutlich innerhalb des Referenzbereichs von 1,6-2,3 mmol/l lagen. Demnach vermag der prophylaktische Einsatz von Solanum glaucophyllum ebenso wie Bovicalc® das mit Milchfieber einhergehende Absinken des Serumphosphatspiegels (Martig, 2002) zu verhindern. Bei einzelnen Kühen war zwar ein Absinken des Phosphatspiegels im Serum zu beobachten (Solanumgruppe: 4 Kühe, Bovicalc®- Gruppe: 3 Kühe), dies war jedoch in nur je einem Fall mit dem klinischen Bild der hypocalcämischen Gebärpause verbunden. Bei den anderen Tieren stieg der Phosphatgehalt im Serum ohne medizinische Intervention bis spätestens zum Zeitpunkt 72 h p.p. wieder an.

Serumphosphatspiegel im Vergleich

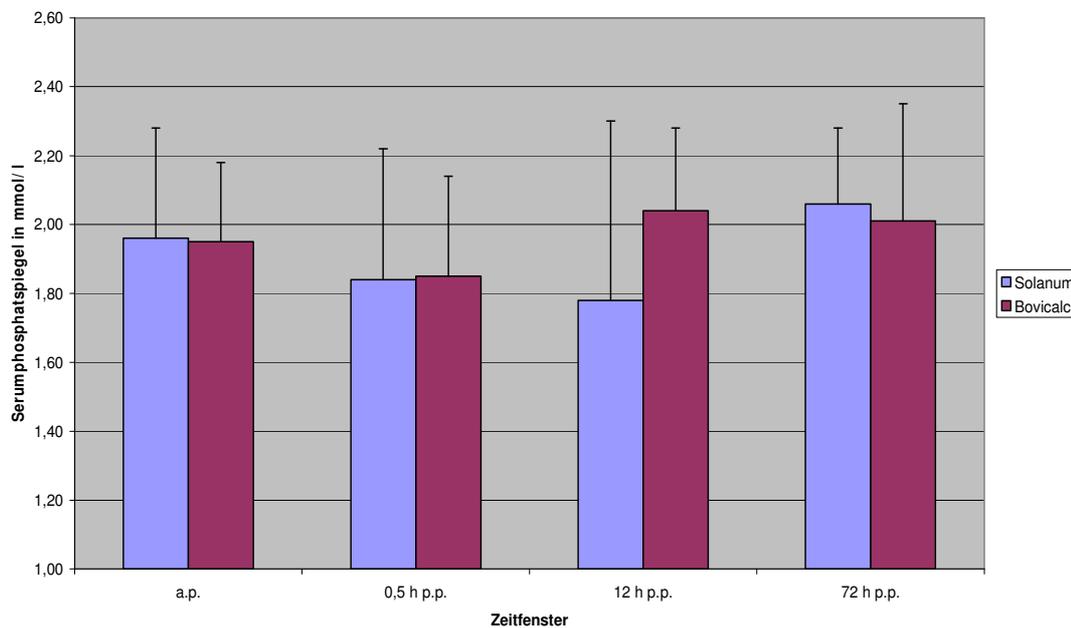


Abbildung 7 Serumphosphatspiegel in mmol/l (MW ± SD) der Kühe beider Gruppen im Versuchszeitraum: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p.

Serumphosphatspiegel beider Gruppen unterteilt nach Anzahl der Kalbungen

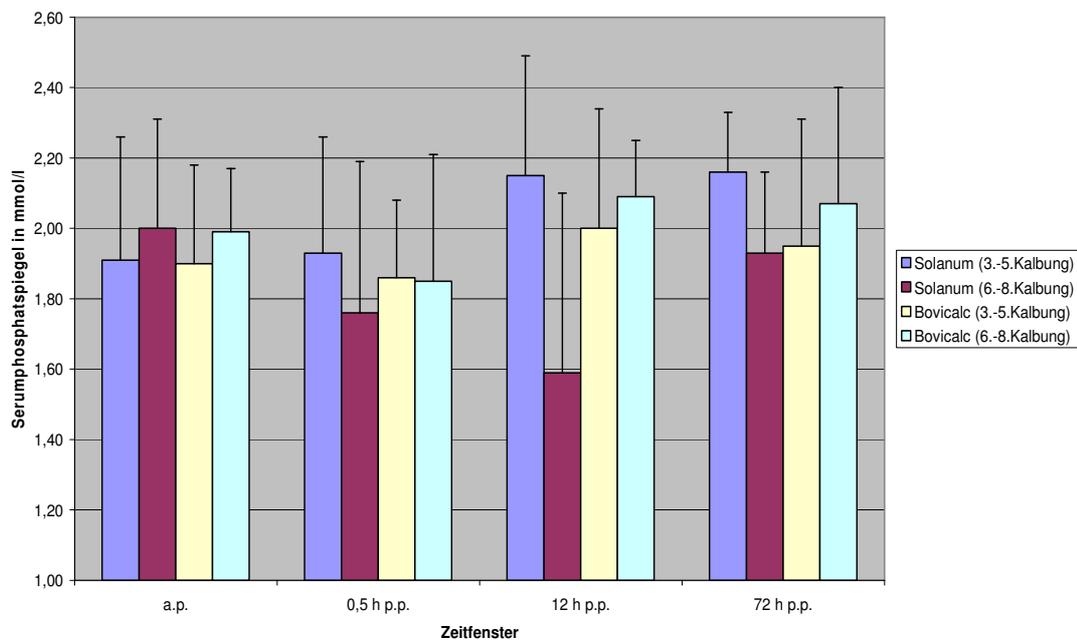


Abbildung 8 Serumphosphatspiegel in mmol/l (MW ± SD) der Kühe beider Gruppen unterteilt nach Anzahl der Kalbungen

5.6 Serummagnesiumgehalt

Auch bei den Serummagnesiumgehalten war kein signifikanter Unterschied zwischen der Solanum- Gruppe und der Bovicalc®- Gruppe zu erkennen. (Abbildung 9). Die mittleren Serummagnesiumspiegel (MW ± SD) lagen zu allen Blutentnahmezeitpunkten innerhalb des Referenzbereichs von 0,8 mmol/l bis 1,3 mmol/l.

Sowohl bei der Bovicalc®- Gruppe als auch bei der Solanum- Gruppe war zu bemerken, dass bei mehr als 50 % der Tiere kaum Schwankungen des Serummagnesiumspiegels auftraten.

Somit konnte auch mit dem in dieser Studie eingesetzten Solanum glaucophyllum- Produkt die Aussage von Fricke (1985) bestätigt werden, in dessen Untersuchungen der Serummagnesiumgehalt durch Solanum glaucophyllum nicht auffällig beeinflusst wurde. Allerdings ist zu erwähnen dass bei einigen Tieren (Solanum- Gruppe: 4 Tiere, Bovicalc®- Gruppe: 5 Tiere) die Serummagnesiumgehalte unterhalb des Referenzbereichs von 0,8 mmol/l bis 1,3 mmol/l lagen, so dass deren Magnesiumversorgung insgesamt als suboptimal anzusehen ist. Dies könnte durch eine veränderte Rationsgestaltung, insbesondere durch eine Supplementierung mit Magnesium verbessert werden.

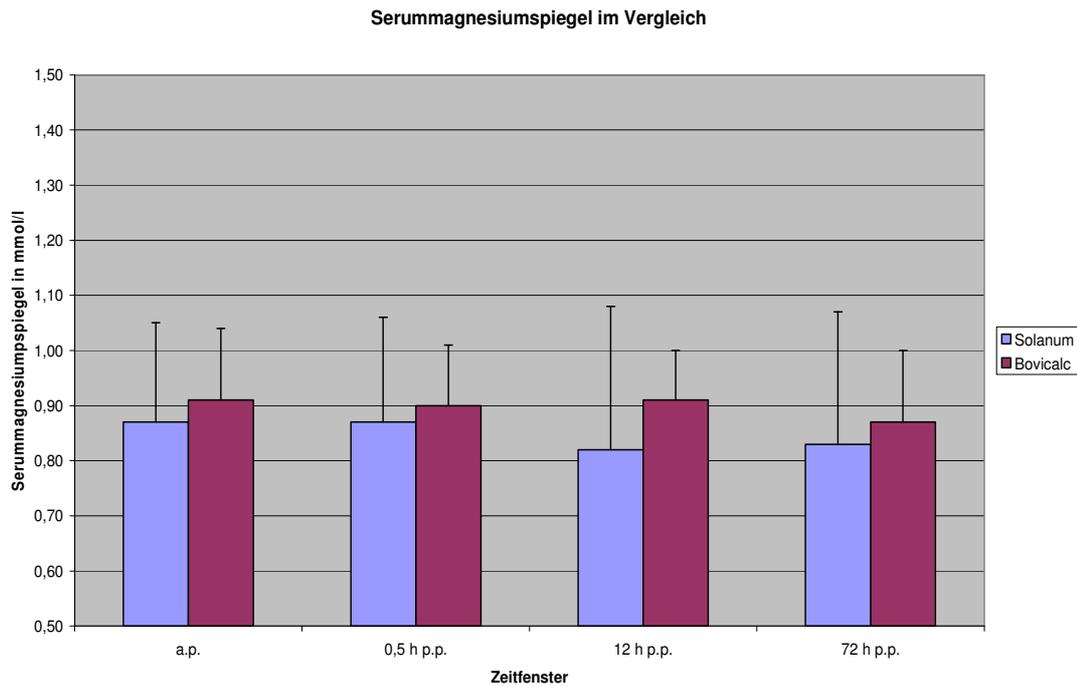


Abbildung 9 Serummagnesiumspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kühe beider Gruppen im Versuchszeitraum: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p.

5.7 Dosierung der Wirkstoffkomponente

Die Dosierung von 5,0 g des Solanum glaucophyllum-Produktes wurde aus verschiedenen Überlegungen gewählt.

Es sollte sich um eine sichere Dosierung handeln, d.h. diese wurde so gewählt, dass keine unerwünschten Nebeneffekte auftreten.

Bei Ratten war eine Dosierung von 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KM im Urin- Ca gerade noch sichtbar. Höhere Dosierungen bei Ratten (0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ und 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ließen den Calciumspiegel im Urin deutlich ansteigen ohne dass nach 28-tägiger Applikation negative Effekte sichtbar geworden wären. (Bachmann, 2007, persönliche Mitteilung).

Bei dem Solanum glaucophyllum-Produkt wird zugrunde gelegt, dass es in einer Konzentration von 50 ppm vorliegt. Bei einer Körpermasse von 500 kg werden pro Tier 250 μg verabreicht. Da es sich in dieser Studie bei den Probanden ausschließlich um Fleckvieh-Kühe handelt und diese eine minimale Körpermasse von 650 kg aufweisen, sollten in nachfolgenden

Untersuchungen andere Dosierungen angewendet werden. Es sollte geprüft werden, ob durch eine Dosiserhöhung auch eine Steigerung der Wirksamkeit erreicht werden kann, ohne dass unerwünschte Nebenwirkungen auftreten.

5.8 Abschließende Beurteilung

Abschließend kann also festgehalten werden, dass der Bedarf an wirksamen Methoden zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese auch aus wirtschaftlichen Gründen sehr groß ist.

Im Praxisgebiet der Tierarztpraxis Laumer/ Schaefer, Schwabach wurden alle Tiere, welche im Vorjahr an Milchfieber erkrankt waren, erfasst und die betreffenden Landwirte zur Teilnahme an dieser Studie aufgefordert. Dabei stellte sich heraus, dass nicht einmal die Hälfte dieser Tiere erneut besamt wurde. Gründe dafür waren mit der Hypocalcämie einhergehende Folgeerkrankungen (siehe Kap. 2.1.7) und persönliche Entscheidungen der Betriebsleiter. Nach Aussage einiger Landwirte wurden solche Kühe, die einmal diese Erkrankung überstanden hatten, wegen des erhöhten Risikos einer erneuten Milchfiebererkrankung nicht mehr belegt, was letztendlich den Abgang dieser Tiere zur Folge hatte.

Die einmalige Verabreichung des in dieser Studie eingesetzten Solanum glaucophyllum- Produkts vermochte ein Absinken des Serumcalciumspiegels ebenso zu verhindern, wie die viermalige Applikation von Bovicalc®. Dies zeigen die mittleren Serumcalciumgehalte, welche sowohl bei der Solanum-Gruppe als auch bei der Bovicalc®- Gruppe zu allen Blutentnahmezeitpunkten 1,9 mmol/l nicht unterschritten. Bei Tieren, welche an Gebärparese erkranken, sinkt dieser Wert unter 1,5 mmol/l (Martig, 2002).

Diese hier beschriebene einmalige Solanum glaucophyllum-Produkt-Verabreichung an prädisponierte Milchkühe scheint eine interessante Alternative in der Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese darzustellen.

Im Rahmen dieser Studie konnten keine unerwünschten Nebeneffekte einer einmaligen Applikation des Solanum glaucophyllum- Produkts beobachtet

werden. In weiteren Untersuchungen sollte auch eine mögliche zweite Applikation des *Solanum glaucophyllum*- Produkts im Falle einer sich nach hinten verzögernden Kalbung auf mögliche unerwünschte Nebeneffekte geprüft werden. Desweiteren bedarf es einer Optimierung der Darreichungsform des in dieser Studie manuell in Gelatine-Kapseln abgefüllten *Solanum glaucophyllum*-Produkts.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Eignung eines Vitamin D-Metabolithaltigen pflanzlichen Produktes von *Solanum glaucophyllum* zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese im Vergleich zu Bovicalc®, einer Kombination von Calciumchlorid und Calciumsulfat in Bolusform, untersucht.

Als Beurteilungskriterien dienten die klinischen Kontrollen des peripartalen Zeitraumes sowie die Serumspiegel von Calcium, Phosphat und Magnesium innerhalb eines Zeitraumes von ersten Geburtsanzeichen bis 72 h post partum.

Im Rahmen von Vorversuchen wurden zunächst die natürlichen Schwankungen des Serumcalciumspiegels bei nichtträchtigen, laktierenden Kühen untersucht. Anschließend wurden die Veränderungen des Serumcalciumspiegels bei diesen Kühen nach Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* ermittelt. Bereits 6 Stunden nach Solanum- Applikation stieg der Calciumgehalt im Serum bei allen Tieren um mindestens 0,4 mmol/l.

Desweiteren wurden 12 Kühen, welche noch nie an Milchfieber erkrankt waren, *Solanum glaucophyllum* zum Zeitpunkt der ersten Geburtsanzeichen verabreicht, um den zeitlichen Rahmen, in welchem diese Anzeichen auftreten können, zu erfassen. Dieser variierte zwischen 120 Stunden und 6 Stunden ante partum. Zusätzlich wurden bei diesen 12 Tieren Veränderungen des Serumcalciumspiegels im peripartalen Zeitraum nach Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* erfasst. Die mittleren Calciumgehalte (MW \pm SD) lagen zu fast allen Blutentnahmezeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches (1,9 mmol/l bis 2,7 mmol/l). Der Einsatz von *Solanum glaucophyllum* vermag demnach in den meisten Fällen das Absinken des Serumcalciumspiegels zu verhindern.

Im Rahmen des Hauptversuches wurden 79 Fleckvieh-Kühe, welche in vorhergehenden Laktationen mindestens einmal an Milchfieber erkrankt waren und mindestens das dritte Kalb erwarteten, als Probanden ausgewählt und in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt einmalig 5,0 g eines

Solanum glaucophyllum-Produkts in einem Zeitfenster von 72 h bis 24 h a.p., die andere Gruppe erhielt Bovicalc® entsprechend der Produktinformation (4 Boli pro Kuh: 12-24 h a.p. (a.p.), 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 24 h p.p.). Vor Verabreichung von Solanum glaucophyllum bzw. des 1. Bolus Bovicalc® wurde Blut entnommen sowie 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p., um die Serumspiegel von Calcium, Phosphat und Magnesium zu bestimmen.

Von den 79 Tieren kalbten 26 Kühe innerhalb der vorgegebenen Zeitfenster, so dass nur diese statistisch erfasst wurden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung ergaben keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Gehalte an Calcium, Phosphat und Magnesium zwischen den beiden Gruppen. Die mittleren Calciumgehalte beider Gruppen lagen zu allen Blutentnahmezeitpunkten >1,9 mmol/l. Bei Tieren, welche an Milchfieber erkrankten, sinkt der Calciumgehalt in der Regel unter 1,5 mmol/l (Martig, 2002). Ebenso ließ der klinische Verlauf des peripartalen Zeitraums keine Unterschiede in der Wirksamkeit der beiden Produkte erkennen. Demnach ist Solanum glaucophyllum so wirksam wie der derzeitige „Goldstandard“ Bovicalc®.

Die Schwierigkeit in der Anwendung beider Produkte bestand in der Bestimmung des Geburtszeitpunktes und somit auch in der Bestimmung des Behandlungszeitpunktes.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das pflanzliche Produkt von Solanum glaucophyllum als interessante Alternative in der Milchfieberprophylaxe betrachtet werden kann. In Folgeuntersuchungen könnte noch ermittelt werden, ob durch Modifizierung der Verabreichung (wiederholte Gabe kleinerer Mengen) die Problematik der Geburtszeitpunktbestimmung umgangen werden kann.

7 Summary

Investigations on the prevention of bovine parturient paresis by a vitamin D containing plant product of *Solanum glaucophyllum*

The dissertation evaluates the qualification of a plant product of *Solanum glaucophyllum* for prevention of parturient paresis in comparison to Bovicalc®. *Solanum glaucophyllum* contains the active metabolite of vitamin D. Bovicalc® - used as a bolus - is a combination of calcium chloride and calcium sulphate.

Assessment criteria were clinical monitoring and the serum levels of calcium, phosphate and magnesium. The relevant time period started at first signs of upcoming calving and ended 72 hours post partum.

The preexamination consisted of natural variability of the serum calcium level as measured by nonpregnant, lactating cows. The next step was to investigate the timing influence of *Solanum glaucophyllum* on the serum calcium level. 6 h after the application of *Solanum glaucophyllum* the serum calcium level of the animals rose- at least 0.4 mmol/ l. A further topic was to measure the timing variability between first signs of upcoming and the real calving of twelve cows, which never suffered from milk fever before. *Solanum glaucophyllum* was applied in this special group at first signs of calving. Differences between 120 h and 6 h before calving were recognized. Additionally, the variability of the serum calcium level in the time period around calving was investigated. There was no decrease of the mean serum calcium level below the reference of calcium in serum (1.9- 2.7 mmol/l) at any time of taken samples. According to this result, the product of *Solanum glaucophyllum* is mostly able to prevent the decrease of the serum calcium level.

The probands of the mean examination were 79 cows having at least two born calves and associated milk fever recumbency in the past. The cows were divided into two groups. One group received a single dose of 5.0 g of *Solanum glaucophyllum* in a time-frame of 72 h until 24 h before calving. The

second group received Bovicalc® according to the manufacturer instruction, four boli per cow (12- 24 h a.p., 0.5 h p.p., 12 h p.p., 24 h p.p.). Blood samples were taken before the administration of Solanum glaucophyllum or before the first bolus of Bovicalc® and furthermore at 0.5 h., 12 h and 72 h post partum. Serum levels of calcium, phosphate and magnesium were measured.

Among the probands were 26 cows which fulfilled the requirements as predicted time-frame between the bolus application and the calving so that these animals were the base for statistical evaluation. No significant difference in the levels of calcium, phosphate and magnesium between the Solanum group and the Bovicalc®-group could be identified. There was no decrease of the mean serum calcium below 1.9 mmol/l in the Solanum group as well as in the Bovicalc® group at any time of taken samples. The serum calcium level of cows which suffer from milk fever decreases in most cases below 1.5 mmol/l (Martig, 2002). No differences in the clinical progress around calving between the Solanum group and the Bovicalc® group could be identified. According to this the preventive effects of Solanum glaucophyllum on bovine parturient paresis are as well as the “golden standard“ Bovicalc®.

The main issue for the successful application of both products is the termination of the correct timing for the medication (precalving), due to the fact that the time of calving could not be prognosed exactly enough.

The plant product of Solanum glaucophyllum is a potential alternative for prevention of milk fever. The modification of the application (repeated applications with smaller dosages) would be an interesting opportunity to prevent the issue of the correct termination of the time of calving. This challenge could be part of further investigations.

8 Literaturverzeichnis

Abele U., Wolf F., (2000)

Gebärparese- ein neues Therapiekonzept

Veterinärspiegel 2000/1: 197-201.

Abu Damir H., Phillippo M., Thorp B.H., Milne J.S., Dick L., Nevison I.M.
(1994)

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

Res Vet Sci. **56** (3):310-318.

Aburjai T., Al-Khalil S., Abuirjeie M. (1998)

Vitamin D3 and its mebolites in tomato, potato, egg-plant and zucchini leaves

Phytochemistry **49**: 2497-2499.

Andersen P. (2001)

Udder insufflation of cows with parturient paresis – a forgotten treatment with a bright future?

Hypocalcaemia, acidosis and calcium homeostasis: An Abildgaard Symposium held at The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark (August 16.-August 17, 2001).

Avioli L.V. (1999)

Vitamin D and D-hormones, alfacalcidol and calcitriol, as therapeutic agents for osteoporotic populations.

Calcif Tissue Int. **65** (4): 292-294.

Bachmann H. (2007)

Persönliche Mitteilung

Herbonis AG, Basel, Schweiz

Bar A., Sachs M., Hurwitz S. (1980)

Observations on the use of 1 alpha-hydroxycholecalciferol in the prevention of bovine parturient paresis.

Vet Rec. **106**(25): 529-532.

Barlet J.P., Davicco M.J., Lefaivre J., Carillo B.J. (1979)

Fetal blood calcium response to maternal hypercalcemia induced in the cow by calcium infusion or by solanum glaucophyllum ingestion.

Horm Metab Res. **11**(1): 57-60.

Barnouin J., Chassagne M. (1991)

An aetiological hypothesis for the nutrition– induced association between retained placenta and milk fever in the dairy cow.

Ann Rech Vet. **22**(4): 331-343.

Barros S.S., Tabone E., Dos Santos M., Andujar M., Grimaud J.A. (1981)

Histological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental Solanum malacoxylon poisoning.

Virchows Arch B Cell Pathol. **35**(2): 169-175.

Barros S.S., Gimeno E.J. (2000)

Cell differentiation and bone protein synthesis in the lungs of sheep with spontaneous calcinosis.

J Comp Pathol. **123**(4): 270-277.

Baxter L.A., DeLuca H.F. (1976)

Stimulation of 25-hydroxyvitamin D₃-1alpha-hydroxylase by phosphate depletion.

J Biol Chem. **251**(10): 3158-3161.

Beede D.K., Wang C., Donovan A., Archibald L.F., Sanchez W.K. (1991)
Dietary cation-anion difference (electrolyte balance) in late pregnancy.

Florida Dairy Prod. Conf., April 10, 1991, Univ. Florida, Gainesville.

Beede D.K. (1992)

Dietary cation-anion difference: Preventing milk fever.

Feed Manag. **43**: 28.

Bethard G., Verbeck R., Smith J.F. (1998)

Controlling milk fever and hypocalcemia in dairy cattle: use of dietary cation- and anion difference (DCAD) in formulating dry cow rations.

Technical Support **31**.

Block E. (1984)

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

J Dairy Sci. **67**(12): 2939-2948.

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):1437-1450.

Bouillon R., Van Cromphaut S., Carmeliet G. (2003)
Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms.
J Cell Biochem. **88**(2): 332-339.

Braun U., Diener M., Hilbe M., Busch M., Bischoff M., Brosi G. (2000)
Enzootic calcosinosis in 16 cows from 6 dairy farms in Unterengadin.
Schweiz Arch Tierheilkd. **142**(6): 333-338.

Bringe A.N., Jorgensen N. A., De Luca H. F. (1971)
Efficacy of 25-hydroxycholecalciferol on prevention of parturient paresis in
dairy cows.
J Dairy Sci. **54**: 792

Bronner F. (2003)
Mechanisms of intestinal calcium absorption.
J Cell Biochem. **88**(2): 387-393.

Bronner F., Pansu D, Stein W.D. (1986)
An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine.
Am J Physiol. **250** (5 Pt 1): G561-569.

Bronner F., Pansu D. (1999)
Nutritional aspects of calcium absorption.
J Nutr. **129**(1):9-12.

Buchelt K.D. (1986)

Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärlähmung mittels
Verfütterung von *Trisetum-flavescens*-Cobs.

Diss. med. vet., Tierärztl. Fak., München.

Buchgraber K., Pötsch E.M. (1998)

Pflanzenbauliche Maßnahmen zur Bekämpfung der Kalzinose

Der fortschrittliche Landwirt **17**: 4-7

Buring K. (1975)

On the origin of cells in heterotopic bone formation.

Clin Orthop Relat Res **110**: 293-301.

Cantorna M.T., Hayes C.E., DeLuca H.F. (1998)

1, 25 Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine
models of human arthritis.

J Nutr **128**(1): 68-72.

Carillo B.J. (1971)

Experimental intoxication of cattle with *Solanum malacoxylon*

Gac Vet **33**: 468-484

Cheng Y. H., Goff J.P., Sell J.L., Dallorso M.E., Gil S., Pawlak S.E., Horst
R.L. (2004)

Utilizing *Solanum glaucophyllum* alone or with phytase to improve
phosphorus utilization in broilers.

Poult Sci. **83**(3): 406-413.

Christakos S., Gill R., Lee S., Li H. (1992)

Molecular aspects of the calbindins.

J Nutr **122**(3 Suppl.): 678-682.

Christakos S., Barletta M., Huening M., Dhawan P., Liu Y., Porta A., Peng X. (2003)

Vitamin D target proteins: function and regulation.

J Cell Biochem. **88** (2), 238-244.

Corradino R.A., Wasserman R.H. (1971)

Vitamin D₃: induction of calcium-binding protein in embryonic chick intestine in vitro.

Science **172**: 731-733.

Craviso G.L., Garrett K.P., Clemens T.L. (1987)

1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces the synthesis of vitamin D-dependent calcium-binding protein in cultured chick kidney cells.

Endocrinology **120**(3): 894-902.

Cross H.S., Bareis B., Hofer H., Bischof M.G., Bajua E., Kriwanek S., Bonner E., Peterlik M. (2001)

25-Hydroxyvitamin D(3)- 1alpha- hydroxylase and Vitamin D receptor gene expression in human colonic mucosa is elevated during early cancerogenesis.

Steroids **66**(3-5): 287-292.

Curtis C.R., Erb H. N., Sniffen C. J., Smith R.D., Powers P.A., Smith M.C., White M.E., Hillman R.B., Perarson E.J. (1983)
Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows.
J Am Vet Med Assoc. **183**(5): 559-561.

Curtis C.C., Erb H.N., Sniffen C.J., Smith R.D. (1984)
Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management.
J Dairy Sci. **67**(4):817-825.

Curtis R. A., Cote J.F., Mills J. A (1970)
Epizootiological study of parturient paresis (milk fever).
Page 81 in Parturient Hypocalcemia J. B. Anderson, ed. Academic Press, Inc., New York, NY.

Dämmrich K., Döbereiner J., Done S.H., Tokarnia C.H. (1975)
Skeletal changes after Solanum malacoxylon poisoning in cattle.
Zentralbl Veterinärmed. **A22**(4): 313-329.

Davies D.C., Allen W.M., Hoare M.N., Pott J.M., Riley C.J., Sansom B.F., Stenton J.R., Vagg M.J. (1978)
A field trial of 1 alpha-hydroxycholecalciferol (1alpha OH D3) in the prevention of milk fever.
Vet Rec. **102**(20): 440-442.

Davies D.T., Holt C., Christie W.W. (1983)

The composition of milk.

Pages 71-117 in Biochemistry of Lactation. T.P. Mepham, ed. Elsevier, New York, N.Y.

Deitner J. und Baumgartner C. (2006)

Calciummangel nach dem Kalben. Festliegen- was tun?

Milchpur **3**: 8-11.

DeLuca H.F. (1974)

Vitamin D: the vitamin and the hormone.

Fed Proc **33**(11): 2211-2219.

DeLuca H.F. (1981)

The vitamin D system: A view from basic science to the clinic.

Clin Biochem. **14**(5): 213-222.

DeLuca H.F., Ghazarian J.G. (1980)

The role of vitamin D and its metabolites in calcium and phosphate metabolism.

Handbuch der inneren medizin VI/ 1a. Knochen, Gelenke, Muskeln edition.
Springer-Verlag, Berlin.

Dirksen G. (1969)

Tagungsbericht der Schaumann-Stiftung zur Förderung der
Agrarwissenschaften.

55-60.

Dirksen G., Plank P., Spiess A., Hänichen T., Dämmrich K. (1970)

Enzootic calcosinosis in cattle. I. Clinical findings and studies.

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 77(14):342-346.

Dirksen G., Plank P., Dämmrich K., Hänichen T. (1971)

Das klinische und pathologisch-anatomische Bild einer enzootischen Kalzinose beim Rind.

Vet Med Nachr (Bayer) 199-214.

Dirksen G., Plank P., Hänichen T., Spiess A. (1972)

Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. V. Experimentelle Untersuchungen an Kaninchen mit selektiver Verfütterung von Knaulgras (*Dactylis glomerata*), Goldhafer (*Trisetum flavescens*) und einem Gräsergemisch.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. **79**(4): 77-79.

Dirksen G., Plank P., Hänichen T., Spiess A. (1973)

Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. VI. Experimentelle Kalzinose beim Kaninchen durch selektive Verfütterung von Goldhafer (*Trisetum flavescens*).

Dtsch Tierärztl Wochenschr **80**(7): 148-151.

Dirksen G., Plank P., Simon U., Hänichen T., Daniel P., Spiess A. (1974)

Enzootic calcosinosis in cattle. VII. Demonstration of calcosinogenic activity of *Trisetum flavescens* in ruminants.

Dtsch Tierärztl Wochenschr **81**(1): 1-5.

Dirksen G., Kaufmann W. (1978)

Untersuchungen über die Pansenmotorik der Milchkuh im Zeitraum um die Kalbung. Fortschritte der Veterinärmedizin. Ber. 12. Kongr. DVG Bad Nauheim **28**: 144-152

Dirksen G., Kragenings G., Hänichen T., Elmer-Engerhard D. (1981)

Trisetum flavescens (L.P.B.): Kalzinogene Aktivität der Pflanze nach künstlicher (Grün-)Trocknung und Herstellung von Cobs.

Dtsch Tierärztl Wochenschr **88**(7): 263-265.

Dirksen G., Sterr K., Hermanns W. (2003)

Enzootic calcinosis in sheep after consumption of golden oat grass (*Trisetum flavescens* L.P.B.).

Dtsch Tierärztl Wochenschr. **110**(12), 475-483.

Döbereiner J. (1971)

Espichamento: Intoxication of cattle by *Solanum malacoxylon*.

Pesq Agro Bras Ser Vet. **6**, 91-117.

Döbereiner J., Done S.H., Beltran L.E. (1975)

Experimental *Solanum malacoxylon* poisoning in calves.

Br Vet J. **131**(2): 175-185.

Edwards H. M. (2000)

Nutrition and skeletal problems in poultry.

Poult Sci **79**(7): 1018-1023.

Ender F., Dishington I.W., Helgebostad A. (1971)
Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis.

Z Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd. **28**(5): 233-256.

Endo K., Katsumata K., Hirata M., Masaki T., Kubodera N., Nakamura T., Ikeda K., Ogata E. (2000)

1,25-dihydroxyvitamin D₃ as well as its analogue OCT lower blood calcium through inhibition of bone resorption in hypercalcemic rats with continuous parathyroid hormone-related peptide infusion.

J Bone Miner Res. **15**(1): 175-181.

Erb H. N., Martin S. W. (1978)

Age, breed and seasonal patterns in the occurrence of ten dairy cow diseases: a case control study.

Can J Comp Med. **42**(1): 1-9.

Erben R.G., Scutt A.M., Miao D., Kollenkirchen U., Haberey M. (1997)

Short-term treatment of rats with high dose 1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulates bone formation and increases the number of osteoblast precursor cells in bone marrow.

Endocrinology **138**(11): 4629-4635.

Fraser D.R. (1995)

Vitamin D.

Lancet 345 (8942): 104-107.

Fricke R. (1985)

Untersuchungen über die Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärlähmung beim Rind mit *Solanum malacoxylon*.

Diss. med. vet., Tierärztl. Fak., München.

Fürll M. (1981)

Vorkommen, Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und medikamentelle Beeinflussung von Leberschäden beim Rind

Leipzig, Univ., Sektion Tierprod. u. Veterinärmed. Habil.-Schr.

Fürll M., Jäkel L., Bauerfeld J., Groppe B. (1996)

Gebärpareseprophylaxe mit „Anionenrationen“.

Collegium veterinarium 26: 31-35.

Fürll M., Körner I. (2006)

Bovicalc , Ca-Pill und Deliver Dual-Ca-Effekte auf die Ca-Konzentrationen sowie andere Parameter in Blut und Harn bei Kühen.

6. Berlin –Brandenburgischer Rindertag, 05. bis 07. Oktober 2006.

Fürll M., Oetzel R. (2001)

The influences of Different CaCl_2 Preparations on the Acid Base State as well as the Mineral Metabolism in Cows.

Acta Vet Scand Suppl. **97**:157-158.

Gallego S.E., Boland R., Bonino M., Azcona J., Villar J. (1979)

Efecto de la administracion de *Solanum malacoxylon* en la calcificacion de los huevos de gallina.

Ver Inv Agropec Inta **62**: 67-76.

Gast D.R., Horst R.L., Jorgensen N.A., DeLuca H. F. (1979)
Potential use of 1, 25-dihydroxycholecalciferol for prevention of parturient paresis.

J Dairy Sci. **62**(6): 1009-1013.

Gaynor P.J., Mueller F.J., Miller J.K., Ramsey N., Goff J.P., 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): 2525-2531.

Gelfert C.C., Brand N., Roemer S., Staufenbiel R., Kron A. (2004)
Untersuchungen zum Einsatz des Calciumbolus Bovicalc®.

5. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, 07. bis 09. Oktober 2004.

Gill B.S., Singh M., Chopra A.K. (1976)
Enzootic calcosinosis in sheep: clinical signs and pathology.

Am J Vet Res. **37** (5): 545-552.

Götze R. (1941)
Untersuchungen, Erfahrungen und Gedanken zur Retentio secundinarum des Rindes.

Dtsch Tierärztl Wochenschr. **49**: 598-601.

Goff J.P. (1999)
Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders.

Vet Clin North Am Food Anim Pract. **15**(3):619-639.

Goff J.P., Horst R.L., Littledike E.T., Boris A., Uskokovic M.R. (1986a)
Bone resorption, renal function and mineral status in cows treated with 1, 25-
dihydroxycholecalciferol and its 24-fluoro analogues.

J. Nutr. 116(8): 1500-1510.

Goff J.P., Littledike E.T., Horst R.L. (1986b)
Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: prevention of
hypocalcemic parturient paresis.

J Dairy Sci. **69**(9):2278-2289.

Goff J.P., Horst R.L., Beitz D.C., Littledike E.T. (1988)
Use of 24-F-1,25-Dihydroxyvitamin D3 to prevent parturient paresis in dairy
cows.

J Dairy Sci. **71**(5): 1211-1219.

Goff J.P., Horst R.L. (1989)
Prevention of milk fever by subcutaneous released 24-F-1, 25-
Dihydroxyvitamin D3-Implantats.

Proc. 7th int. Conf. Product. Diseases in Farm Animals, Cornell Univ., 228-
231.

Goff J.P., Kehrli M.E. Jr., Horst R.L. (1989)
Periparturient hypocalcemia in cows: prevention using intramuscular
parathyroid hormone.

J Dairy Sci. 72(5): 1182-1187.

Goff J.P., Horst R.L. (1990)

Effect of subcutaneously released 24F-1,25-dihydroxyvitamin D3 on incidence of parturient paresis in dairy cows.

J Dairy Sci. **73**(2): 406-412.

Goff J.P., Horst R.L., Mueller F.J., Miller J.K., Kiess G.A., 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): 3863-3871.

Goff J.P., Reinhardt T.A., Horst R.L. (1991b)

Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows.

J Dairy Sci. **74**(11): 4022-4032.

Goff J.P., Horst R.L. (1993)

Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle.

J Dairy Sci. **76**(1):101-108.

Goff J.P., Horst R.L. (1994)

Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration.

J Dairy Sci. **77**(5):1451-1456.

Goff J.P., Reinhardt T.A., Beitz D. B., Horst R. L. (1995a)

Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in periparturient dairy cows: a milk fever risk factor?

J Dairy Sci. **78** (Suppl.1):184(Abst.).

Goff J.P., Reinhardt T.A., Horst R.L. (1995b)

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): 2388-2394.

Goff J.P., Horst R.L. (1997)

Effects of dietary potassium or sodium, but not calcium to prepartum ratios on milk fever in dairy cows.

J Dairy Sci. 80(1): 176-186.

Goff J.P., Horst R.L. (2001)

Milk Fever Control in the United States.

Hypocalcaemia, acidosis and calcium homeostasis: An Abildgaard Symposium held at The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark (August 16.-August 17.)

Goff J.P., Ruiz R., Horst R.L. (2003)

Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever.

J Dairy Sci. **87**: 1245-1255.

Goings R.L., Jacobson N.L., Beitz D.C., Littledike E.T., Wiggers K.D. (1974)

Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet.

J Dairy Sci. **57**(10): 1184-1188.

Grabherr H., Spolders M., Meyer U., Flachowsky G, Füll M. (2006)
Influence of zeolite A supplementation during the dry period of dairy cows on the peripartal mineral metabolism and on feed intake and milk yield in the following lactation

Proc Soc Nutr Physiol. **15**:112.

Grabherr H., Spolders M., Flachowsky G., Füll M. (2007)
Effects of several dosage of zeolite A on feed intake and on the mineral metabolism around calving.

Proc Soc Nutr Physiol. **16**:37.

Green H.B., Horst R.L., Beitz D.C., Littledike E.T. (1981)
Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia.

J Dairy Sci. **64**(2): 217-226.

Greig J.R. (1930)
Calcium gluconate as a specific in milk fever.

Vet Record. **10**: 115- 120.

Greissinger C.S. (2004)
Bestimmung der Vitamin D- Aktivität von calcinogenen Pflanzen im Wachteleischalentest

Diss. med. vet., Tierärztl. Fak., München.

Griffin M.D., Kumar R. (2003)
Effects of 1alpha, 25(OH)2D3 and its analogs on dendritic cell function.

J Cell Biochem **88**(2):323-326.

Gröhn Y.T., Erb H. N., McCulloch C.E., Saloniemi H.S. (1989)
Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: association among host characteristics, disease and production.

J Dairy Sci. **72**(7): 1876-1885.

Gründer H.-D. (1985)

Rezidivprophylaxe und Vorbeuge der hypocalzämischen Gebärparese des Rindes.

Tierärztliche Umschau **40**: 166-168.

Grunert E. (1983)

Ätiologie, Pathogenese und Therapie der Nachgeburtshaltung beim Rind.

Wien. tierärztl. Monatsschr. **70**: 230-235.

Güthle U. (1991)

Untersuchungen zur Prophylaxe der Hypokalzämischen Gebärlähmung mittels 1 α -Hydroxycholecalciferol.

Diss. vet.med., Tierärztl Fak., München

Guo Q., Christakos S., Robinson N., Mattson M.P. (1998)

Calbindin D28k blocks the proapoptotic actions of mutant presenilin 1: reduced oxidative stress and preserved mitochondrial function.

Proc Natl Acad Sci USA **95** (6): 3227-3232.

Hänichen T., Plank P., Dirksen G. (1970)

Enzootic calcosinosis in cattle II. Histomorphological studies of soft tissues.

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **77**(14): 338-342.

Hallgren W. (1965)

“Parturient paresis”: Definition, terminology, treatment, prevention.

Wien. Tierärztl. Monatsschr. **52**:359-369.

Hanchette C.L., Schwartz G.G. (1992)

Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation.

Cancer **70**(12): 2861-2869.

Haussler M.R. (1986)

Vitamin D receptors: nature and function.

Annu Rev Nutr. **6**: 527-562.

Haussler M.R., Wasserman R.H., McCain T.A., Peterlik M., Bursac K.M. und Hughes M.R. (1976)

1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside: identification of a calcinogenic principle of *Solanum malacoxylon*.

Life Sci. **18** (10): 1049-1056.

Herrath D., Kraft D., Offermann G. und Schäfer K. (1974)

Solanum malacoxylon: eine therapeutische Alternative für 1,25-Dihydroxycholecalciferol bei urämischen Calciumstoffwechselstörungen.

Dtsch Med Wochenschr **99**: 2407-2409.

Hibbs J.W. (1950)

Milk fever (parturient paresis) in dairy cow- : a review.

J Dairy Sci. **33**: 758- 789.

Hibbs J.W., Pouden W.D. (1955)
Studies on milk fever in dairy cows. Prevention by short-time prepartum
feeding of massive doses of vitamin D.

J Dairy Sci. **38**: 65-72.

Höggemeier A.

Abbildung: *Trisetum flavescens*

Botanischer Garten, Ruhr- Universität Bochum

Hoenderop J.G., van der Kemp A.W., Hartog A., van de Graaf S.F., van Os
C.H., Willems P.H., Bindels R.J. (1999)

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

J Biol Chem. **274** (13): 8375-8378.

Hoffsis G. F., Capen C.C., Placke M.E., Norman A.W. (1978)

Use of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the prevention of parturient
hypocalcemia in dairy cows.

Bovine Pract. **13**: 88-95.

Holick M.F. (2002)

Vitamin D: The underappreciated D-hormone that is important for skeletal
and cellular health

Curr Opin Endocrinol Diabetes **9**: 87-98.

Holtrop M.E., Cox K.A., Clark M.B., Holick M.F., Anast C.S. (1981)

1,25-dihydroxycholecalciferol stimulates osteoclasts in rat bones in the
absence of parathyroid hormone.

Endocrinology **108**(6): 2293-2301.

Horner S., Dallmeyer M., Staufenbiel R., Gelfert C.C. (2002)
Shifting in clinical signs of bovine parturient paresis with special respect of hypophosphataemia

XXII World Buiatrics Congress, Hannover, Germany; 18-23 August, 2002;
Abstract: 24-818

Horst R.L. (1986)

Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow.

J Dairy Sci. **69**(2): 604-616.

Horst R.L., DeLuca H.F., Jorgensen N. A. (1978)

The effect of age on calcium absorption and accumulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal mucosa of rats.

Metab Bone Dis Relat Res. **1**: 29.

Horst R.L., Goff J. P., Reinhardt T. A. (1990)

Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor.

Endocrinology **126**(2): 1053-1057.

Horst R.L., Goff J.P., 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): 141-156.

Hove K., Kristiansen T. (1982)

Prevention of parturient hypocalcemia: effect of a single oral dose 1,25-dihydroxyvitamin D₃.

J Dairy Sci **65**(10): 1934-1940.

Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (2004)
Jahresbericht 2004

Jönsson G.(1979)
Ätiologie und Prophylaxe der Gebärparese des Rindes.
Übers Tierern. **7**: 193-216.

Johnson J. A., Beckman M. J., Pansini–Porta A., Christakos S., Bruns M. E.,
Beitz D. C., Horst R.L., Reinhardt T. A. (1995)
Age and gender effects on 1,25-dihydroxyvitamin D₃-regulated gene
expression.
Exp. Gerontol. **30**(6): 631-643.

Jones G., Strugnell S.A., DeLuca H.F. (1998)
Current understanding of the molecular actions of Vitamin D.
Physiol Rev. **78**(4), 1193-1231.

Jonsson G., Pehrson B. (1970)
Trials with prophylactic treatment of parturient paresis.
Vet Rec. **87**(9): 575-578.

Jorgensen N.A. (1974)
Combating milk fever.
J Dairy Sci. 57(8): 933-944.

Jorgensen N. A., Horst R.L., De Luca H. F., Ogilvie M.L. (1978)
25-hydroxcholecalciferol for prevention of “milk fever” in dairy cows.
Vet Rec. **103**(7): 136-138.

Kanis J.A., Drezner M.K., Evans D.B., Horst R.L., Malluche H.H., Norman A.W., Thavarajah M., Uskokovic M.R. (1988)

Vitamin D. Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology.

chapter Prospects for the modelling of vitamin D activity in man, 739-748.

Walter de Gruyter, Berlin-New York.

Kauer H. (2006)

Vitamin D in Immunologie und Onkologie. Eine Literaturstudie

Diss. med. vet., Tierärztl. Fak., München

Kichura T.S., Horst R.L., Beitz D.C., Littledike E.T. (1982.)

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

J Nutr. **112**(3): 480-487.

Krafft W., Dürr U. (Hrsg). (1999)

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin

Schattauer Verlag, 5. Auflage.

Kreisl M.M. (1981)

Einfluss von Goldhaferfraktionen auf Vitamin D-abhängige Parameter beim rachitischen Hühnerküken

Diss.med. vet., Tierärztl. Fak., München.

Kremer R., Goltzman D. (1982)

Parathyroid hormone stimulates mammalian renal 25-hydroxyvitamin- D3-1alpha-hydroxylase in vitro.

Endocrinology **110**(1): 294-296.

Krook L., Wassermann R.H., McEntee K., Brokken T.D., Teigland M.B.
(1975)

Cestrum diurnum poisoning in Florida cattle.

Cornell Vet. **65** (4):557-575.

Kunz W., Hänichen T. (1981)

Solanum malacoxylon: studies of tolerance of doses recommended for the prophylaxis of parturient paresis.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr **94**(21): 421-424.

Kunz W., Hänichen T. (1983)

Solanum malacoxylon: investigation on the systemic tolerance of doses recommended for prophylaxis of parturient paresis.

Anim Res Dev. **17**: 88-93.

Kusumanti E. J., Agger J. F., Jensen K. (1993)

Association between incidence risk of milk fever and lactation number, breed and season.

Acta Vet Scand Suppl **89**: 141-142.

Lawson D.E.M., Davie M. (1979)

Aspects of the metabolism and function of vitamin D.

Vitam Horm. **37**: 1-67.

Lemire J.M., Archer D.C. (1991)

1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis.

J Clin Invest. **87** (3): 1103-1107.

Li Y.C., Kong J., Wei M., Chen Z.F., Liu S.Q., Cao L.P. (2002)
1,25 -Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-
angiotensin system.

J Clin Invest. **110**(2): 229-238.

Libiseller R., Gunhold P. (1969)

Calcinosen bei Kühen.

Naturwissenschaften **56**(1): 39.

Liesegang A. (2001)

Milk fever in Switzerland.

Hypocalcaemia, acidosis and calcium homeostasis: An Abildgaard
Symposium held at The Royal Veterinary and Agricultural University,
Copenhagen, Denmark (August 16.-August 17, 2001).

Lucey S., Rolands G. J. (1983)

Relationships between production diseases and milk yield.

Proceedings Vth Int. Conf. on Production Diseases in Farm Animals,
Uppsala: 85-88.

Lynd F.T., Willers E.H., Weight L.A., Gebauer P.W. (1965)

Bovine arteriosclerosis in Hawaii.

Am J Vet Res. **26**(115): 1344-1349.

MacLaughlin J., Holick M.F. (1985)

Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3.

J Clin Invest **76**(4): 1536-1538.

Manolagas S.C., Deftos L.J. (1981)

Comparison of 1,25-, 25-, and 24,25 hydroxylated vitamin D₃ binding in fetal rat calvariae and osteogenic sarcoma cells.

Calcif Tissue Int **33**(6): 655-661.

Manolagas S.C., Provvedini D.M., Tsoukos C.D. (1985)

Interactions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and the immune system.

Mol Cell Endocrinol. **43** (2-3): 113-122.

Manston R., Mallinson C.B., Vagg M.J., Sansom B.F. (1981)

Study of combined injections of 1 alpha-hydroxycholecalciferol and cloprostenol in the prevention of parturient paresis.

Vet Rec. **109**(16): 357-358.

Markowitz M.E., Gundberg C.M., F. Rosen J. (1987)

The circadian rhythm of serum osteocalcin concentrations: effects of 1,25dihydroxyvitamin D administration.

Calcif Tissue Int. **40**(4) 179-183.

Martig J. (2002)

Hypokalzämische Gebärlähmung

Dirksen, G., Gründer H.D., Stöber M. (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes, Parey Buchverlag Berlin, S. 1245-1254.

Martin T.J. (1993)

Hormones in the coupling of bone resorption and formation.

Osteoporos Int. 3 Suppl. 1: 121-125.

Massey C.D., Wang C., Donovan G.A., Beede D.K. (1993)
Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows.

J Am Vet Med Assoc. **203**(6): 852-853.

Mautalen C.A., Ferraro C., Cabrejas M., Landi E., Gotlieb L. (1977)
Effects of Solanum malacoxylon on calcium metabolism in patients with chronic renal failure.

Calcif Tissue Res. **22**: 534-537.

May E., Asadullah K., Zugel U. (2004)
Immunoregulation through 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its analogs.

Curr Drug Targets Inflamm Allergy **3**(4): 377-393.

Mayer G. P., Ramberg C.F. Jr., Kronfeld D.S., Buckle R. M., Sherwood L. M., Aurbach G. D., Potts J. T. Jr. (1969)

Plasma parathyroid hormone concentration in hypocalcemic parturient cows.

Am J Vet Res. 30(9): 1587-1597.

Mayer H., Scutt A., Wingender E. (1992)

New perspectives in the differentiation of bone forming cells.

Biofactors **4**(1): 1-13.

McMurray C.H., Rice D.A., McBride P.S. (1980)

Milk fever controls: comparison of 1-alpha and vitamin D3 in conjunction with induced parturition.

Vet Rec. 107(9): 188-191.

Mello J.R.B. (1991)

Untersuchungen der Auswirkungen von kalzinogenen Pflanzen auf die Elemente Ca, P und alkalische Phosphatase bei Hühnerküken.

Diss. med. vet., TiHo Hannover, 196 p.

Mello J.R. (2003)

Calcinosis-calcinogenic plants.

Toxicon **41**(1):1-12.

Mello J.R.B., Langeloh A., Habermehl G., Krebs H.C., Bastos F. (1999)

Influencia de extratos de duas plantas calcinogenicas sobre a fertilidade de ratos.

Arq Bras Med Vet Zootec **51**: 543-462.

Merke J., Klaus G., Waldherr R., Ritz E. (1986)

No 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors on osteoclasts of calcium- deficient chicken despite demonstrable receptors on circulating monocytes.

J Clin Invest. **77**(1): 312-314.

Minghetti P.P., Cancela L., Fujisawa Y., Theofan G., Norman A.W. (1988)

Molecular structure of the chicken vitamin D-induced calbindin-D28K gene reveals eleven exons, six Ca²⁺-binding domains, and numerous promoter regulatory elements.

Mol Endocrinol. **2**(4): 355-367.

Minghetti P.P., Norman A.W. (1988)

1,25(OH)₂-vitamin D₃ receptors: gene regulation and genetic circuitry.

FASEB J **2**(15): 3043-3053.

Morris K.M.L. (1977)

The effect on egg shell thickness of the inclusion of the calcinogenic plant
Solanum malacoxylon in the diet of laying hens.

Vet Rec. **101**:502-504.

Morris J.G. (1997)

Ineffective synthesis of vitamin D in kittens exposed to sun or UV-light is
reversed by an inhibitor of 7-dehydrocholesterol-reductase

Vitamin D: chemistry, biology and clinical application of the steroid hormone.
721-722

National Research Council. (1989)

Nutrient Requirements of Dairy Cows.

6th. Rev. ed. Natl. acad. Sci., Washington DC.

Nemere I., Norman A.W. (1988)

1,25 Dihydroxyvitamin D₃- mediated vesicular transport of Ca in intestine:
time course studies

Endocrinology **122**(6): 2962-2969.

Nijweide P.J., Burger E.H., Feyen H.M. (1986)

Biological active forms of vitamin D₃ in kidney and intestine.

Arch Biochem Biophys **108**: 12-14.

Norman A.W., Nemere I., Zhou L.X., Bishop I.E., Lowe K.E., Maiyar A.C.,
Collins E.D., Taoka T., Sergeev I., Farach-Carson M.C. (1992)

1,25(OH)₂- vitamin D₃, a steroid hormone that produces biologic effects via
both genomic and nongenomic pathways.

J Steroid Biochem Mol Biol. **41**(3-8): 231-240.

Norman A.W., Song X.D., Zanello L., Bula C., Okamura W.H. (1999)
Rapid and genomic biological responses are mediated by different shapes of
the agonist steroid hormone, 1alpha, 25(OH)₂vitamin D₃
Steroids. **64**(1-2): 120-128.

Nowotzin C. (1983)
Untersuchungen über die Wirkungsäquivalenz von Trisetum flavescens und
1alpha, 25Dihydroxycholecalciferol sowie über den Einfluss von
Aluminiumhydroxid auf die Goldhafer-Kalzinose beim Schaf.
Diss. med. vet., Tierärztl. Fak. der LMU, München.

Oetzel G.R. (1988)
Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. **4**(2): 351-364.

Oetzel G.R. (1991)
Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle.
J Dairy Sci. 74(11): 3900-3912.

Oetzel G.R. (1993)
Effects of prophylactic treatment with a calcium chloride gel on serum
calcium concentration at calving, milk fever, and displaced abomasums in
Holstein cows.
J Dairy Sci. **76** (Suppl. 1): 304 A. (Abstr.).

Oetzel G.R. (1996)
Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of
periparturient diseases.
J Am Vet Med Assoc. **209**(5): 958-961.

Oetzel G.R., Olson J.D., Curtis C.R., Fettman M.J. (1988)
Ammonium chloride and ammonium sulphate for prevention of parturient paresis in dairy cows.

J Dairy Sci. 71(12): 3302-3309.

Oetzel G.R., Fettman M.J., Hamar D.W., Olson J.D. (1991)
Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows.

J Dairy Sci. 74(3): 965-971.

Oetzel G.R., Barmore J.A. (1993)
Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non-lactating cows.

J Dairy Sci. **76**: 1617- 1623.

Olson W.G., Jorgensen N. A., Schultz L.H., De Luca H.F. (1973)
25-Hydroxycholecalciferol (25 (OH) D3). II. Efficacy of parenteral administration in preventing of parturient paresis.

J Dairy Sci. **56**(7): 889-895.

Pansu D., Duflos C., Bellaton C., Bronner F. (1993)
Solubility and intestinal transit time limit calcium absorption in rats.

J Nutr. **123**(8): 1396-1404.

Paisley L.G., Mickelsen W.D., Anderson P.B. (1986)
Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review

Theriogenology 25 (3): 353-381.

Pedrozo H.A., Schwartz Z., Rimes S., Sylvia V.L., Nemere I., Posner G. H.,
Dean D.D., Boyan B.D.(1999)

Physiological importance of the 1,25(OH)₂D₃ membrane receptor and
evidence for a membrane receptor specific for 24, 25(OH)₂D₃.

J Bone Miner Res. **14**(6): 856-867.

Phillippo M., Reid G.W., Nevison I. M. (1994)

Parturient hypocalcaemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma
minerals and calciotropic hormones.

Res Vet Sci. 56(3):303-309.

Pike J.W. (1985)

Intracellular receptors mediate the biologic action of 1,25 dihydroxyvitamin
D₃.

Nutr Rev. **43** (6): 161-168.

Pötsch E M. (1999)

Kalzinose-Eine gefürchtete Weidekrankheit.

5. Alpenländisches Expertenforum „Zeitgemäße Weidewirtschaft“

Bericht der BAL Gumpenhausen: 73-80

Pötsch E.M. (2001)

Maßnahmen zur Bekämpfung der enzootischen Kalzinose.

Prema T.P, Rhaguramulu N. (1996)

Vitamin D₃ and its metabolites in the tomato plant.

Phytochemistry **42** (3): 617-620.

Price P.A., Baukol S.A. (1981)

1,25-dihydroxyvitamin D₃ increases serum levels of the vitamin K-dependent bone protein.

Biochem Biophys Res Commun. **99**(3):928-935.

Puche R.C., Bingley J.B. (1995)

Calcinosis of Cattle in Argentina.

2nd edition editon. UNR Editora, Rosario. 152 p.p.

Rambeck W.A. (1997) Vitamin D.

Biesalski H.K., Schrezenmeir J., Weber P. und Weiss H., eds., Vitamine: Physiologie, Pathophysiologie, Therapie, 34-40.

Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.

Rambeck W.A., Oesterhelt W., Vecchi M., Zucker H. (1979)

Occurence of cholecalciferol in the calcinogenic plant *Trisetum flavescens*.

Biochem Biophys Res Commun. **87**(3): 743-749.

Rambeck W.A., Weiser H., Haselbauer R., Zucker H. (1981)

Vitamin D activity of different vitamin D₃ esters in chicken, Japanese quail and in rats.

Int J Vitam Nutr Res. **51**(4): 353-358.

Rambeck W. A., Zucker H. (1981)

Vitamin D₃ und Vitamin D₃-metabolitartige Aktivität in *Trisetum flavescens*.

Zentralbl Veterinärmed A **28**: 436-441.

Rambeck W.A., Zucker H. (1982)

Vitamin D-artige Aktivitäten in calcinogenen Pflanzen.

Zentralbl Veterinärmed A **29** (4-5): 289-296

Rambeck W.A., Weiser H., Meier W., Labler L., Zucker H. (1985)

Biological activity of the three mono-beta-D-glucanopyranosides of 1,25-dihydroxycholecalciferol.

Int J Vitam Nutr Res. **55**(3): 263-267.

Rambeck W.A., Zucker H. (1985)

Synergistic effects of 1,25(OH)₂D₃ and 24,25 (OH)₂D₃ on duodenal CaBP in rachitic chick and on eggshell weight in Japanese quails.

Biochem Biophys Res Comm. **126**: 799-804.

Rambeck W.A., Eggert A., Lehner M., Thierer K.J., Weiser H. (1991)

Effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on egg production and egg shell quality in laying hens.

Abstract– eighth Workshop on vitamin D– Paris– France.

Ramberg C.F., Johnson E.K., Fargo R. D., Kronfeld D.S. (1984)

Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia

Am J Physiol. **246**(5 Pt 2): R698-704.

Reichenbächer H. (1979)

Der Einfluss von Goldhafer (*Trisetum flavescens*) und *Solanum malacoxylon* auf die Eischalenqualität.

Vet. med. diss., Tierärztl. Fak. der LMU, München.

Riet Correa F., Mendez M.C., Schild A.L., Petiz C. A., Scarsi R. (1993)
Enzootic calcosinosis in sheep. Experimental reproduction with *Nierembergia*
veitchii. (Solanaceae).

Pesq. Vet. Bras. **13**: 21-24.

Ringarp N., Rydberg C., Damberg O., Boström B. (1967)
Study of a prophylactic therapy of puerperal paresis in cows by means of oral
administration of calcium chloride gel.

Zentralbl Veterinarmed. **14**(3): 242-251.

Rings M. B., Rings D. M., Welker B. (1997)
Milk fever. Seeking new solutions to an old problem.

The Compendium **19**: 175-180.

Roche J.R., Kolver E.S., Kay J.K. (2005)
Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and
hormonal responses and milk production in grazing dairy cows.

J Dairy Sci. **88**(2): 677-689.

Roche J.R., Berry D.P. (2006)
Periparturient climatic, animal and management factors influencing the
incidence of milk fever in grazing systems.

J Dairy Sci. **89**(7): 2775-2783.

von Rosenberg S. (2005)
Untersuchungen zur knochenprotektiven Wirkung von *Trisetum flavescens*
und *Solanum glaucophyllum* im Osteoporosemodell der ovariektomierten
Ratte.

Diss. vet. med., Tierärztl. Fak, München.

von Rosenberg S., Wehr U., Bachmann H. (2007)

Effect of vitamin D-containing plant extracts on osteoporotic bone.

Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology **103**: 596-600.

Roux R., Davicco J.M., Carillo B.J., Barlet J.P. (1979)

Solanum glaucophyllum in pregnant cows. Effect on colostrum mineral composition and plasma calcium and phosphorus levels in dams and newborn calves.

Ann Biol anim Bioch Biophys. **19**(1A): 91-101.

Rukkwamsuk T., Kruij T.A., Wensing T. (1999)

Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period.

Vet Q. **21**(3): 71-77.

Ruksan B E, Lowe L B, Maranguich L, Ball G (2000)

A possible preventive treatment of enzootic calcinosis in cattle by ingestion of *Solanum malacoxylon* (Sendtner)

Proc. 28. World Buiatrics Congr., Punta del Este, Abstr. 326, p. 109.

Sachs M., Bar A., Cohen R., Mazur Y., Mayer E., Hurwitz S. (1977)

Use of 1 alpha-hydroxycholecalciferol in the prevention of bovine parturient paresis.

Am J Vet Res. **38**: 2039-2041.

Sachs M., Bar A., Nir O., Ochovsky D., Machnai B., Meir E., Weiner B.Z.
Mazor Z. (1987)

Efficacy of 1 alphahydroxyvitamin D3 in the prevention of bovine parturient paresis.

Vet Rec. **120**(2): 39-42.

Salomon E. (1973)

Versuch zur Prophylaxe der Gebärparese mit einem Kortikosteroid.

Tierärztliche Umschau **28**: 544-550.

Schechter G. (1976)

Der Goldhafer im Zwielight

Der Förderungsdienst **11**

Schmidt J.(1897/1898)

Studium und Versuche über die Ursache und die Behandlung der Gebärparese.

Maanedskr. Dyrlaeg.9, 225; M.-hefte prakt. Tierheilk. **9**: 241-262, 289-321.

Schültken A., Moll G. (1998)

Effizienz einer oralen Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese mit der Kalziumchlorid-Öl-Emulsion Calol in der Praxis.

Prakt. Tierarzt **79**(2): 150-161.

Schwartz G.G., Whitlatch L.W., Chen T.C., Lokeshwar B.L., Holick M.F.
(1998)

Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D3 from 25-hydroxyvitamin D3.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. **7**(5): 391-395.

Seekles L., Reitsma P., DeMan Th., Wilson J.H.G. (1958)

Resultate van de tijdige intraveneuze toediening van hoge doseringen kristallijn vitamine D₃ in gesolubiliseerde vorm aan runderen ter voorkoming van melkziekte. Tijdschr. Diergeneesk. **83**: 125-136.

Sergeev I.N. (2004)

Calcium as a mediator of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced apoptosis.

J Steroid Biochem Mol Biol **89-90**(1-5): 419-425.

Shibata T., Shira-Ishi A., Sato T., Masaki T., Masuda A., Hishiya N., Ishikura N., Higashi S., Ushida Y., Saito M.O., Ito M., Ogata E., Watanabe K., Ikeda K. (2002)

Vitamin D hormone inhibits osteoclastogenesis in vivo by decreasing the pool of osteoclast precursors in bone marrow.

J Bone Miner Res. **17**(4): 622-629.

Signorini G.C. (1974)

Vergleichende Versuche zur Prophylaxe der Gebärparese mit Asistar®.

Tierärztliche Umschau **29**: 544-545.

Simon U. (1980)

Golden oat grass and enzootic calcinosis of cattle in the alpine region.

Europ. Grass Fed. 7113-7124.

Skliar M., Curino A., Milanese L., Benassati S., Boland R. (2000)

Nicotiana glauca: another plant species containing vitamin D(3) metabolites.

Plant Sci. **156**(2): 193-199.

Slepchenko B.M., Bronner F. (2001)

Modeling of transcellular Ca transport in rat duodenum points to coexistence of two mechanisms of apical entry.

Am J Physiol Cell Physiol. **281**(1): C270-281.

Smith E., McLaughlin J.A., Grange W., Taylor C.M., Holick M.F. (1986)

Cultured psoriatic fibroblasts have partial resistance to the proliferation-inhibition activity of 1,25-dihydroxyvitamin D₃.

Proc Natl Acad Sci USA **82**(16): 5409-5412.

Sooy K., Schermerhorn T., Noda M., Surana M., Rothen W.B., Meyer M., Fleischer N., Sharp G.W., Christakos S. (1999)

Calbindin D(28k) controls Ca²⁺ and insulin release.

J Biol Chem. **274**: 34343-34349.

Staufenbiel R., Engelhard T. (1999)

Vier Strategien gegen Milchfieber.

Top Agrar 9: R16-R18.

Steenbock H., Black A. (1924)

Fat soluble vitamins. XVII. The induction of growth promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultraviolet light.

J Biol Chem **61**:405-422.

Stolla R., Schulz H., Martin R. (2000)

Veränderungen im Krankheitsbild des perinatalen Festliegens beim Rind.

Tierärztliche Umschau **55**: 295-299.

Stumpf W.E., Sar M., Reid F.A., Tanaka Y., DeLuca H.F. (1979)
Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney,
skin, pituitary and parathyroid.

Science **206**(4423): 1188-1190.

Suda T., Takahashi N., Martin T.J. (1992)
Modulation of osteoclast differentiation.

Endocr Rev. **13**(1): 66-80.

Suda T., Ueno Y., Fuji K., Shinki T. (2003)
Vitamin D and bone.

J Cell Biochem. **88**(2): 259-266.

Tagaki H., Block E. (1991)

Effects of manipulating dietary cation-anion balance on macromineral
balance in sheep.

J Dairy Sci. 74(12): 4202-4214.

Tarres M.C., Liborio M.M., Juster G., Osmetti G., Puche R.C. (1977)
Evaluacion de la influencia de Entequo Seco en la provincia de Santa Fe y
del perjuicio involucrado.

Ver Med Vet. (BsAs) **58**: 387-397.

Tanaka Y., Wichman J.K., DeLuca H.F., Kobayashi Y. and Ikekawa N. (1983)
Metabolism and binding properties of 24,24-difluoro-25-hydroxyvitamin D3.

Arch. Biochem. Biophys. **225**(2): 649-655.

The natural History Museum London
Abbildung: Solanum glaucophyllum

Thilising-Hansen T., Jorgensen R.J., Ostergaard S. (2002)
Milk fever Control Principles. A Review.
Acta Vet Scand. **43**(19): 1-19.

Thilising-Hansen T., Jorgensen R.J., Enemark J.M., Larsen T. (2002)
The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient
calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis.
J Dairy Sci. **85**(7): 1855-62.

Thilising-Hansen T., Jorgensen R.J., Enemark J.M., Zelvyte R, Sederevicius
A. (2003)
The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral
status around calving
Acta Vet Scand Suppl. **97**: 87-95.

Tokarnia C.H., Döbereiner J., Peixoto P.V. (2000)
Plantas toxicos do Brasil
Helianthus, Rio de Janeiro, 310 p.

Tokarnia C.H., Döbereiner J., Peixoto P.V. (2002)
Poisonous plants affecting livestock in Brazil.
Toxicon **40**(12): 1625-1660.

Tran T.-D. (1997)

Mit Elektrolyten-Balance gegen Milchfieber.

Rinderwelt **6**: 26-28.

Trump D.L., Johnson C.S. (2003)

Anti- tumor activity of calcitriol. Pre- clinical and clinical studies.

12th workshop on Vitamin D, Maastricht.

Tucker G., Gagnon R.E., Haussler M.R. (1973)

Vitamin D3-25-hydroxylase: tissue occurrence and apparent lack of regulation.

Arch Biochem Biophys. **155**(1): 47-57.

Uribe H.A., Kennedy B.W., Martin S.W., Kelton D.F. (1995)

Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows.

J Dairy Sci. **78**(2): 421-430.

Vagg M.J., Allen W.M., Davies D.C., Sansom B.F., Edwards H.J., Pott J.M., Riley C.J. (1981)

Field trial to determine the efficacy of two doses of 1 alpha-hydroxycholecalciferol in the prevention of milk fever.

Vet Rec. **109**(13): 273-275.

FÜR VETERINÄRPHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE I. (2005)

Trisetum flavescens – Botanik.

Winterthurerstr. 260, Ch-8057 Zürich, Schweiz.

Wang C., Risco C.A., Velez S., Beede K. (1994)

Recent advances in prevention of parturient paresis in dairy cows.

Compend Cond Educ Pract Vet. **16**: 1373-1381.

Waser J., Meyer J., Hänichen T., Dirksen G. (1983)

Trisetum flavescens und Vitmin D₃: Vergleich der kalzinogenen Wirkung beim Schaf.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. **96**: 163-166.

Wasserman R.H. (1974)

Calcium absorption and calcium- binding protein synthesis. Solanum malacoxyton reverses Strontium inhibition.

Science **183**: 1092- 1094.

Wasserman R.H. (1975)

Active vitamin D-like substances in Solanum malacoxyton and other calcinogenic plants.

Nutr Rev. **33(1)**:1-5.

Wasserman R.H., Corradino R.A., Krook L., Hughes M.R., Haussler M.R. (1976)

Studies on the 1 α , 25 dihydroxycholecalciferol-like activity in a calcinogenic plant. Cestrum diurnum in the chick.

J Nutr. 106 (4): 457-465.

Watts N.B. (1999)

Clinical utility of biochemical markers of bone remodelling.

Clin Chem. **45(8pt2)**: 1359-1368.

Wermuth N. C. (1990)

New Treatment of milk fever.

Abstract No. 525. Proc. XVI. World Buiatr. Cong., Salvador Bahia, Brazil.
SOGEPACO, Bologna, Italy.

Wittwer F.G., Ford E.H.J (1978)

1 alpha hydroxycholecalciferol in the prevention of milk fever.

Vet Rec. 102(20): 442-444.

Yamagishi N., Ayukawa Y., Lee I., Oboshi K., Naito Y. (2005)

Calcium metabolism in cows receiving an intramuscular injection of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ combined with prostaglandin F_{2α} closely before parturition

J. Vet. Sci. **6**(2): 165-167.

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): 234-237.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 <i>Solanum glaucophyllum</i>	43
Abbildung 2 <i>Trisetum flavescens</i>	44
Abbildung 3 Verteilung der Anzahl der Kalbungen der Probanden des Hauptversuchs	88
Abbildung 4 Milchleistungsverteilung der Probanden des Hauptversuches	89
Abbildung 5 Serumcalciumspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kuhe von Versuchs- und Vergleichsgruppe	97
Abbildung 6 Serumcalciumspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kuhe beider Gruppen unterteilt nach Anzahl der Kalbungen	98
Abbildung 7 Serumphosphatspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kuhe beider Gruppen im Versuchszeitraum: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p.	99
Abbildung 8 Serumphosphatspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kuhe beider Gruppen unterteilt nach Anzahl der Kalbungen	99
Abbildung 9 Serummagnesiumspiegel in mmol/l (MW \pm SD) der Kuhe beider Gruppen im Versuchszeitraum: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p.....	101

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Vorkommen von Kalzinosen (nach Greissing, 2004)	37
Tabelle 2 Daten der Probanden der Vorversuche für Erfassung des Serumcalcium-Verlaufs: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung und Haltungsform	49
Tabelle 3 Daten der Probanden des Vorversuches für Erfassung des Calciumspiegels nach Solanum glaucophyllum- Applikation im präpartalen Zeitraum: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung und Haltungsform	50
Tabelle 4 Daten der Probanden des Hauptversuchs: Alter, Anzahl der Kalbungen, Ernährungszustand, Milchleistung, Haltungsform	51
Tabelle 5 Klinische Erscheinungen bei den Probanden des Vorversuchs	66
Tabelle 6 Klinische Erscheinungen bei den Tieren der Solanum- Gruppe	67
Tabelle 7 Klinische Erscheinungen bei den Tieren der Bovicalc®-Gruppe	68
Tabelle 8 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs zu den Intervallen: 0, 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72, 96 Stunden nach der ersten Blutentnahme	69
Tabelle 9 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 1b zum Zeitpunkt 0 und 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72 und 96 Stunden nach Solanum- Applikation .	70
Tabelle 10 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden a.p.: 114, 108, 102, 96, 84, 72, 66	72
Tabelle 11 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden a.p.: 60, 48, 42, 36, 24, 18, 12, 6	72
Tabelle 12 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden p.p.: 0,5, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48	73
Tabelle 13 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Probanden des Vorversuchs 2 zu folgenden Stunden: p.p. 54, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96	73
Tabelle 14 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	75
Tabelle 15 Serumcalciumgehalt in mmol/l der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	76
Tabelle 16 Vergleich des Serumcalciumgehalts von Solanum- Gruppe und Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten: a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. (MW ± SD)	77
Tabelle 17 Vergleich des Serumcalciumgehalts von Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)	77
Tabelle 18 Serumphosphatgehalt (mmol/l) der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	79
Tabelle 19 Serumphosphatgehalt (mmol/l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	80

Tabelle 20 Vergleich des Serumphosphatgehalts (mmol/l) von Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. (MW ± SD)	80
Tabelle 21 Vergleich des Serumphosphatgehaltes (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit der Bovicalc®- Gruppe, unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)	81
Tabelle 22 Serummagnesiumgehalt (mmol/l) der Solanum- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	83
Tabelle 23 Serummagnesiumgehalt (mmol/l) der Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., p.p., 12 h p.p., 72 h p.p. bzw. vor Infusion	84
Tabelle 24 Vergleich des Serummagnesiumgehalts (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit Bovicalc®- Gruppe zu den Zeitpunkten a.p., 0,5 h p.p., 12 h p.p. und 72 h p.p. (MW ± SD)	84
Tabelle 25 Vergleich des Serummagnesiumgehalts (mmol/l) der Solanum- Gruppe mit der Bovicalc®- Gruppe, unterteilt nach Anzahl der Kalbungen (MW ± SD)	85
Tabelle 26 Nährstoffgehalte (MW ± SD) im Futter nach Weender-Analyse	86
Tabelle 27 Gehalt (MW ± SD) an Ca, P und Mg im Futter	86

11 Danksagung

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. W.A. Rambeck, möchte ich mich herzlich für die Überlassung des Themas und die hilfsbereite Betreuung während der Arbeit bedanken.

Ein weiterer Dank gilt meinen Betreuern Frau Dr. Sylvia von Rosenberg und Herrn Dr. Ulrich Wehr, die mich bei der Planung und Durchführung der Versuche beraten haben. Besonders möchte ich mich bei Frau Dr. Sylvia von Rosenberg bedanken, die durch ihre ständige Erreichbarkeit, ihre schnelle Hilfe und wertvollen Anregungen das Gelingen dieser Arbeit ermöglichte.

Bei der Herbonis AG, Basel, Schweiz bedanken wir uns für die Bereitstellung des Solanum glaucophyllum- Produkts.

Ein herzliches Dankeschön geht an die Mitarbeiter des Lehrstuhls für Tierernährung. Besonders erwähnen möchte ich Herrn W. Hesselbach und Frau E. Kleiner, die mich bei der Laborarbeit mit Rat und Tat unterstützt haben.

Bei Frau E. Stadler von der Außenstelle Oberwiesefeld bedanke ich mich für die Hilfe bei der Vorbereitung der Applikationsform des Solanum glaucophyllum- Produkts.

Ich bedanke mich bei allen Landwirten, die mich durch die Bereitstellung ihrer Tiere unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt der Praxis Laumer/ Dr. Schaefer in Schwabach, die mir bei der Durchführung des Versuches sehr behilflich waren.

Ein weiterer Dank geht an Hermann Wieser, der mich tatkräftig bei Computerfragen unterstützt hat.

Bei meinem Mann bedanke ich mich ganz besonders, da er mich stets durch seine Motivation und sein Verständnis unterstützt hat.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, denn ohne deren Hilfe hätte ich mein Studium und die Dissertation nicht so schnell und erfolgreich bewältigen können.

12 Lebenslauf

Name: Sabine Hildegard Schlötterer-Wieser, geb. Schlötterer

Geburtsdatum: 21.09.1981 in Schwabach

Familienstand: verheiratet mit Dietmar Hermann Wieser,
Agrarbetriebswirt
zwei Kinder: Zwillinge Alexandra Barbara und
Carolin Emilie Wieser, geb. 16.12.2007

Eltern: Wilhelm Schlötterer, Landwirtschaftsmeister
Marga Schlötterer, geb. Krafft;
Meisterin d. ländl. Hauswirtschaft

Geschwister: Margot Barbara Witt, geb. Schlötterer

Schulbildung:

1987-1991 Grund- und Teilhauptschule Wolkersdorf
1991-2000 Adam-Kraft-Gymnasium Schwabach
30.06.2000 Abitur

Studium:

2000-2006 Studium der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
14.02.2006 3. Staatsexamen an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
07.03.2006 Approbation als Tierärztin

Berufserfahrung:

seit 4.2006: Mitarbeit in der Tierarztpraxis Laumer/ Dr.Schaefer,
Schwabach

10.2006-06.2007 Mitarbeit in der Tierarztpraxis Dr. Hofmann,
Fichtenau

Promotion:

03.2006-10.2007 Anfertigung vorliegender Dissertation am
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München