

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ. Prof. Dr. E. Kienzle

**Untersuchungen zur Wirkung eines pflanzlichen Vitamin D
Metaboliten bei laktierenden Milchkühen**

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

Von Katharina Schmölz

aus Starnberg

München 2012

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Referentin:	Univ.-Prof. Dr. Kienzle
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Mansfeld

Tag der Promotion: 21. Juli 2012

*Für meine Familie
und Tobi*

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
Abbildungsverzeichnis	2
Tabellenverzeichnis	3
1 Einleitung	6
2 Literaturübersicht	7
2.1 Geschichte des Vitamin D	7
2.2 Bildung des Vitamin D im menschlichen und tierischen Körper	8
2.3 Vitamin D und Calciumhomöostase	9
2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ am Darm.....	11
2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ an den Knochen.....	11
2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ an der Niere.....	12
2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ an der Nebenschilddrüse.....	12
2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ in anderen Organen.....	13
2.4 Vitamin D-haltige Pflanzen	14
2.4.1 <i>Trisetum flavescens</i>	14
2.4.2 <i>Solanum glaucophyllum</i>	15
2.4.3 Andere Vitamin D-haltige Pflanzen.....	16
2.5 Bildung und Funktion des Vitamin D in Pflanzen	17
2.6 Erkrankungen durch Vitamin D-haltige Pflanzen	18
2.6.1 Klinische Erscheinungen.....	18
2.6.2 Pathogenese von Calcinosen.....	19
2.6.3 Pathologisch-anatomische und histologische Befunde.....	20
2.6.4 Vorkommen von Calcinosen.....	22
2.6.5 Therapie und Prophylaxe von Calcinosen.....	23

2.6.6 Wirtschaftliche Bedeutung von Calcinosen	23
2.7 Möglichkeiten der Nutzung Vitamin D-haltiger Pflanzen in der Medizin	24
2.7.1 Einsatz Vitamin D-haltiger Pflanzen in der Tiermedizin	24
2.7.1.1 Zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause	24
2.7.1.2 Zur Prophylaxe der Tibia Dyschondroplasie beim Geflügel	28
2.7.1.3 Zur Optimierung der Eischalenqualität bei Legehennen	29
2.7.2 Untersuchungen zu einem möglichen Einsatz Vitamin D-haltiger Pflanzen in der Humanmedizin	31
2.7.2.1 Zur Behandlung der postmenopausalen Osteoporose	31
2.7.2.2 Zur Behandlung der renalen Osteodystrophie	32
3 Material und Methoden	33
3.1 Studienziel	33
3.2 Versuchstiere	33
3.3 Testsubstanz	34
3.4 Applikation	35
3.5 Versuchsplan	37
3.6 Probenentnahme	39
3.6.1 Futterproben	39
3.6.2 Blutproben	39
3.6.3 Urinproben	39
3.6.4 Milchproben	40
3.7 Untersuchte Parameter	40
3.7.1 Serum	40
3.7.1.1 Calcium, Kalium und Natrium	40
3.7.1.2 Phosphat	41
3.7.1.3 Magnesium	42
3.7.1.4 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃	
3.7.2 Urin	42

3.7.2.1 Calcium, Kalium und Natrium	42
3.7.2.2 Phosphat	43
3.7.2.3 Kreatinin	43
3.7.3 Milch	44
3.7.3.1 Calcium, Natrium, Kalium	45
3.7.3.2 Phosphat	45
3.7.3.3 Magnesium	45
3.7.4 Futteranalyse	45
3.7.4.1 Trockensubstanz	45
3.7.4.2 Weender-Analyse des Futters	46
3.7.4.3 Rohfaserbestimmung	46
3.7.4.4 Rohaschebestimmung	47
3.7.4.5 Rohproteinbestimmung	47
3.7.4.6 Rohfettbestimmung	48
3.7.4.7 Calcium-, Magnesium- und Phosphatgehalt im Futter	48
3.8 Statistische Auswertung	49
4 Ergebnisse	50
4.1 Versuch 1	50
4.1.1 Parameter im Serum	50
4.1.1.1 Calcium im Serum	50
4.1.1.2 Phosphat im Serum	51
4.1.1.3 Kalium im Serum	53
4.1.1.4 Natrium im Serum	54
4.1.1.5 Magnesium im Serum	55
4.1.1.6 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum	56
4.1.1.7 Ketonkörper im Vollblut	57
4.1.2 Klinische Erscheinungen	58
4.1.3 Parameter im Urin	59
4.1.3.1 Calcium im Urin	59

4.1.3.2 Phosphat im Urin	60
4.1.3.3 Natrium im Urin	61
4.1.3.4 Kalium im Urin	62
4.1.4 Parameter in der Milch	64
4.1.4.1 Calcium in der Milch	64
4.1.4.2 Phosphat in der Milch	65
4.1.4.3 Magnesium in der Milch	65
4.1.4.4 Natrium in der Milch	66
4.1.4.5 Kalium in der Milch	67
4.1.5 Parameter im Futter	68
4.1.5.1 Weender-Analyse des Futters	68
4.1.5.2 Mineralstoffgehalte des Futters	68
4.2 Versuch 2	70
4.2.1 Parameter im Serum	70
4.2.1.1 Calcium im Serum	70
4.2.1.2 Phosphat im Serum	71
4.2.1.3 Kalium im Serum	72
4.2.1.4 Natrium im Serum	73
4.2.1.5 Magnesium im Serum	74
4.2.1.6 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum	76
4.2.1.7 Ketonkörper im Vollblut	77
4.2.2 Klinische Erscheinungen	78
4.2.3 Parameter im Urin	79
4.2.3.1 Calcium im Urin	79
4.2.3.2 Phosphat im Urin	81
4.2.3.3 Natrium im Urin	82
4.2.3.4 Kalium im Urin	83
4.2.4 Parameter in der Milch	84
4.2.4.1 Calcium in der Milch	84
4.2.4.2 Phosphat in der Milch	84

4.2.4.3 Magnesium in der Milch	85
4.2.4.4 Natrium in der Milch	86
4.2.4.5 Kalium in der Milch	86
5 Diskussion	88
5.1 Studiendesign	88
5.1.1 Auswahl der Versuchstiere	88
5.1.1.1 Versuch 1	88
5.1.1.2 Versuch 2	88
5.1.2 Haltung und Fütterung der Versuchstiere	89
5.1.3 Ablauf der Studie	89
5.1.3.1 Verabreichung des Extrakts	89
5.1.3.2 Blutentnahme	90
5.1.3.3 Uringewinnung	90
5.1.3.4 Milchprobengewinnung	90
5.1.3.5 Wahl der Beurteilungskriterien	91
5.1.4 Dosierung des Wirkstoffs und Verabreichungsplan	91
5.2 Kritik der Ergebnisse	93
5.2.1 Klinische Erscheinungen im Versuchszeitraum	93
5.2.2 Serumparameter	93
5.2.2.1 Calcium im Serum	93
5.2.2.2 Phosphat im Serum	96
5.2.2.3 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum	98
5.2.2.4 Magnesium im Serum	99
5.2.2.5 Natrium und Kalium im Serum	100
5.2.3 Milchparameter	101
5.2.3.1 Calcium in der Milch	101
5.2.3.2 Phosphat in der Milch	102
5.2.3.3 Magnesium in der Milch	102

5.2.3.4 Natrium und Kalium in der Milch	102
5.2.4 Urinparameter	103
5.2.4.1 Calcium im Urin	103
5.2.4.2 Phosphat im Urin	104
5.2.4.3 Natrium im Urin	106
5.2.4.4 Kalium im Urin	106
5.3 Abschließende Beurteilung	107
6 Zusammenfassung	108
7 Summary	110
8 Literaturverzeichnis	112
9 Danksagung	130
10 Lebenslauf	132

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
Ca	Calcium
Cl	Clorid
g	Gramm
h	Stunde
HCl	Salzsäure
HNO ₃	Salpetersäure
K	Kalium
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
KOH	Kalilauge
Mg	Magnesium
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
Na	Natrium
NaOH	Natriumhydroxid (Natronlauge)
P	Phosphat
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rpr	Rohprotein
S	Schwefel
S.g.	Solanum glaucophyllum
SD	Standartabweichung
TCA	Trichloressigsäure
TMR	Total mixed Ration
TS	Trockensubstanz
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferol
25 (OH)D ₃	25-Hydroxycholecalciferol

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Die Aktivierung des in der Haut unter Einfluss von UV- Strahlung aus 7-Dehydrocholesterol synthetisierten oder mit der Nahrung aufgenommenen Vitamin D ₃ in der Leber und die Hydroxylierung durch die 1 α , Hydroxylase in der Niere zu 1 α ,25(OH) ₂ D ₃ . Modifiziert nach Zhu & DeLuca (2012)	9
Abbildung 2.2: Die Pflanze Solanum glaucophyllum aus Krapp (2002)	15
Abbildung 5.1: mittlere Serumcalciumwerte mit Standardabweichung von 12 Tieren, Versuche 1 und 2 in mmol/l, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm	95
Abbildung 5.2: Calcium im Serum der schwersten (420, 848kg) und der leichtesten (491, 537kg) Kuh, Versuch 1, Präparat Verabreichung: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm	96
Abbildung 5.3: mittlere Serumphosphatgehalte in mmol/l und Standardabweichung von 12 Tieren, Versuche 1 und 2, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm	97
Abbildung 5.4: 1, 25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum, Versuch 1(n=10) und 2 (n=3) mit Standardabweichung, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm	99
Abbildung 5.5: Calcium/Kreatinin- Verhältnis im Urin mit Standardabweichung, Versuche 1 und 2 von 12 Tieren, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm	104
Abbildung 5.6: Phosphat/Kreatinin-Verhältnis im Urin mit Standardabweichung, Versuche 1 (10 Tiere) und 2 (12 Tiere), Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm, Versuch 1 ohne Tier Nr. 421 und 498	105

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Weltweites Vorkommen von Calcinosen nach Mello (2003)	29
Tabelle 3.1: Rasse, Geburtsdatum, Laktationsstadium und Gewicht bei Beginn der Studie	34
Tabelle 3.2: Tiernummer Gewicht und Dosierung in μg pro kg Körpermaße und Tag sowie Gesamtdosis von Versuch 1 und 2	36
Tabelle 3.3: Plan für den 1. Versuch, tägliche Verabreichung	37
Tabelle 3.4: Plan für den 2. Versuch, Verabreichung jeden 2. Tag	38
Tabelle 4.1: Versuch 1, Gesamtcalcium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	51
Tabelle 4.2: Versuch 1, Phosphat im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	52
Tabelle 4.3: Versuch 1, Kalium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	53
Tabelle 4.4: Versuch 1, Natrium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	54
Tabelle 4.5: Versuch 1, Magnesium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	55
Tabelle 4.6: Versuch 1, 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum in pg/ml, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2 und 5 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	56
Tabelle 4.7: Versuch 1, Ketonkörper im Vollblut in $\mu\text{mol/l}$, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	57
Tabelle 4.8: Versuch 1, Klinische Erscheinungen, an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	58
Tabelle 4.9: Versuch 1, Calcium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	60
Tabelle 4.10: Versuch 1, Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	61
Tabelle 4.11: Versuch 1, Natrium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	62

Tabelle 4.12: Versuch 1, Kalium /Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	63
Tabelle 4.13: Versuch 1, Calciumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	64
Tabelle 4.14: Versuch 1, Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	65
Tabelle 4.15: Versuch 1, Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	66
Tabelle 4.16: Versuch 1, Natriumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	66
Tabelle 4.17: Versuch 1, Kaliumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	67
Tabelle 4.18: Rohrnährstoffgehalte der beiden Kraftfutterarten (1 und 2), sowie der Total-Mixed-Ration (TMR) von Tag 0 des ersten Versuchs, Tag 30 des ersten Versuchs und Tag 33 des zweiten Versuchs nach Weender-Analyse	68
Tabelle 4.19: Gehalte an Calcium (Ca), Phosphat (P), Natrium (Na), Kalium (K) und Magnesium (Mg) der beiden Kraftfutterarten (1 und 2), sowie der Total-Mixed-Ration (TMR) von Tag 0 des ersten Versuchs, Tag 30 des ersten Versuchs und Tag 33 des zweiten Versuchs	69
Tabelle 4.20: Versuch 2, Gesamtcalcium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	71
Tabelle 4.21: Versuch 2, Phosphat im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	72
Tabelle 4.22: Versuch 2, Kalium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	73
Tabelle 4.23: Versuch 2, Natrium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	73
Tabelle 4.24: Versuch 2, Magnesium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	75

Tabelle 4.25: Versuch 2, 1,25 Dihydroxyvitamin D ₃ im Serum pg/ml, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	76
Tabelle 4.26: Versuch 2, Ketonkörper im Vollblut µmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	77
Tabelle 4.27: Versuch 2, Klinische Erscheinungen der Tiere an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	78
Tabelle 4.28: Versuch 2, Calcium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	80
Tabelle 4.29: Versuch 2, Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	81
Tabelle 4.30: Versuch 2, Natrium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	82
Tabelle 4.31: Versuch 2, Kalium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	83
Tabelle 4.32: Versuch 2, Calciumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	84
Tabelle 4.33: Versuch 2, Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	85
Tabelle 4.34: Versuch 2, Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	85
Tabelle 4.35: Versuch 2, Natriumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	86
Tabelle 4.36: Versuch 2, Kaliumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)	87

1 Einleitung

In den vergangenen Jahrzehnten wurden eine Reihe von Studien über Vitamin-D-Metabolit-haltige calcinogene Pflanzen, wie z.B. *Solanum glaucophyllum* und deren schädliche Wirkungen, aber auch deren mögliche prophylaktisch-therapeutische Einsatzmöglichkeiten, durchgeführt.

Insbesondere die potentielle Verwendung dieser Pflanzen zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause des Rindes wurde untersucht (Fricke, 1985; Buchelt, 1986; Schlötterer-Wieser, 2008; Kehrle, 2011). Dabei zeigte sich, dass der Pflanzenextrakt aus *Solanum glaucophyllum* für eine wirksame Prophylaxe etwa 24 bis 72 Stunden vor dem Kalben verabreicht werden muss. Nach Foote (1981) beträgt die Tragzeit bei Milchkühen zwischen 270 und 290 Tagen. Sie ist abhängig von der Rinderrasse, der Laktationszahl der Kuh, des Geschlechts des Kalbes, der Anzahl der ausgetragenen Feten und individuellen Faktoren. Kalbt das Tier nicht termingerecht, wird eventuell eine weitere Verabreichung der Wirksubstanz nötig.

Vor diesem Hintergrund sollte in der vorliegenden Studie eine zehntägige Applikation einer kleinen Menge eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* an laktierenden Milchkühen erprobt werden, um herauszufinden, wie sich bei laktierenden Tieren die Mineralstoffzusammensetzung in Blut und Urin über einen längeren Zeitraum entwickelt. Um das auch aus anderen Studien bekannte Absinken des Serumcalciumspiegels unter die Ausgangswerte nach Absetzen des 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-haltigen Präparates zu verhindern, sollte in einem zweiten Versuch nach Ende der Verabreichung noch fünf Tage lang eine sich jeweils verringerende Menge des Pflanzenextraktes verabreicht werden („Ausschleichen“ des Präparates). Gleichzeitig sollte in diesem Versuch die Menge gegenüber dem ersten Versuch nochmals reduziert werden.

Außerdem sollte erstmalig überprüft werden, ob die Verabreichung eines 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-haltigen Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* die Mineralstoffzusammensetzung der reifen Milch laktierender Kühe beeinflussen kann.

2 Literaturübersicht

2.1 Geschichte des Vitamin D

Bereits in Knochenfunden aus dem Neolithikum sowie aus dem alten Ägypten lassen sich Knochendeformationen nachweisen, die dafür sprechen, dass schon damals Vitamin-D-Mangelerkrankungen existiert haben müssen (Ebrahim, 1979).

Die neuere Geschichte des Vitamin D begann in der Mitte des 19. Jahrhunderts, als man herausfand, dass Kinder, die in der Stadt lebten, häufiger an Rachitis erkrankten, als Kinder, die auf dem Land aufwuchsen. Etwa ein Jahrhundert später wurde klar, dass Kinder, die in warmen und sonnigen Regionen aufwachsen, niemals an Rachitis erkrankten. Vitamin D wurde erstmals 1922 von McCollum isoliert. Der deutsche Adolf Windhaus, der die Vorstufen des Vitamin D isolierte und erstmals aus Cholesterin durch Bestrahlung herstellte, erhielt dafür 1928 den Nobelpreis für Chemie (Sharif, 2009). Erst 1967 wurden die aktiven Metaboliten des Vitamin D entdeckt, was eine weitere Erforschung der beteiligten Enzyme nach sich zog. Von da an wurden Vitamin D und seine aktiven Metaboliten nicht mehr ausschließlich den Vitaminen zugeordnet, sondern viel mehr als Hormon angesehen (Prosser & Jones, 2004). Das in großen Mengen künstlich hergestellte Vitamin D verbesserte die Versorgung der Babys und Kleinkinder so deutlich, dass die Erkrankung Rachitis heute in den industrialisierten Ländern praktisch als ausgestorben gilt (Jenny, 2008). Zusätzlich wurde in den europäischen Städten ab Mitte des 20. Jahrhunderts die Luftqualität viel besser, so dass durch einen weit größeren Anteil an ultraviolettem Licht die Anreicherung der Nahrung mit Vitamin D nun für unnötig erachtet wurde. Neueste Studien weisen jedoch darauf hin, dass insbesondere bei älteren Menschen und Personen, die sich wenig UVB Strahlung aussetzen, eine Supplementierung mit Vitamin D die Knochenstabilität und sogar die Lebenserwartung positiv beeinflussen könnte. Demnach weisen in Deutschland 60 % der Bevölkerung eine zu geringe Vitamin D-Versorgung auf. Als Kriterium für eine ausreichende Versorgung mit Vitamin D wird ein Mindestwert von 50 nmol/l 25 Hydroxyvitamin D im Blut angenommen. Bei fehlender körpereigener Synthese ist zum Erreichen dieses Wertes eine tägliche Aufnahme von 20 µg Vitamin D erforderlich. Mit der bei uns üblichen Ernährung nimmt ein Jugendlicher oder Erwachsener 2- 4 µg auf. Der Rest

sollte, falls keine ausreichende Bestrahlung mit UVB-Licht durch häufigen Aufenthalt im Freien mit ausreichend unbedeckter Haut erfolgt, über ein Vitamin D-haltiges Präparat zugeführt werden (DGE, 2012).

2.2 Bildung des Vitamin D im menschlichen und tierischen Körper

Vitamin D kann vom menschlichen und tierischen Körper sowohl mit der Nahrung aufgenommen, als auch im Körper synthetisiert werden. Die Bildung ist abhängig vom Breitengrad, der Jahres- und Tageszeit, Witterung, Kleidung, Aufenthaltsdauer im Freien, sowie dem Hauttyp (DGE, 2012). Versuche mit Weiderindern, bei denen unterschiedlich große Hautareale von der Sonneneinstrahlung abgeschirmt wurden, haben gezeigt, dass Rinder auch auf der behaarten Körperoberfläche Vitamin D bilden können (Hymøller, 2010). Bei der heute noch häufigen ganzjährigen Haltung von Rindern in Ställen ohne direkte Sonneneinstrahlung muss jedoch der gesamte Bedarf an Vitamin D über das Futter bereitgestellt werden. Für Milchkühe (Gewicht 700 kg) wird der Bedarf mit 10 000 IE Vitamin D pro Tier und Tag angegeben (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, 2011).

Vitamin D ist weniger ein Vitamin als ein Prohormon, das auf photochemischem Weg in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol synthetisiert wird. Dies zeigt sich auch in der Struktur, die sehr ähnlich den klassischen Steroidhormonen (z.B. Cortison, Aldosteron, Östradiol) ist (Norman, 2008). Die enzymatische Aktivierung von Vitamin D verläuft über Speziesgrenzen hinweg weitgehend analog (Prosser *et al.*, 2006). Das in der Haut in den Keratinozyten gebildete oder mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D wird zunächst, an ein Vitamin-D-bindendes-Protein (DBP) gebunden, in die Leber transportiert und dort durch eine 25-Hydroxylase zu 25 Hydroxyvitamin D hydroxyliert. Anschließend wird es, erneut an ein Vitamin-D-bindendes Protein gebunden, über den Blutweg in die Nieren gebracht, wo es mittels einer 1, α Hydroxylase zur aktiven Form des Vitamin D 1,25 Dihydroxyvitamin D (1,25 (OH)₂D₃), auch „aktives Vitamin D“ genannt, hydroxyliert wird (Zhu & DeLuca, 2012). (siehe Abbildung 2.1). Die Bildung des Steroidhormons 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ unterliegt einer fein abgestimmten Regulation. Die wichtigsten Faktoren, die die enzymatische Bildung von 1,25 (OH)₂D₃ beeinflussen, sind Parathormon und ein niedriger Phosphatspiegel, die die 1, α Hydroxylase aktivieren, sowie das Produkt 1,25 (OH)₂D₃, das hemmend wirkt. Indirekt, meist über Parathormon, beeinflussen

u.a. Calcium, Östrogen, Glucocorticoide, Calcitonin, Wachstumshormone und Prolactin die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Bildung. Alle diese Regulationsschritte dienen dazu, gerade so viel $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu synthetisieren, dass der Körper seinen momentanen Calcium- und Phosphatbedarf decken kann (Rambeck, 1997).

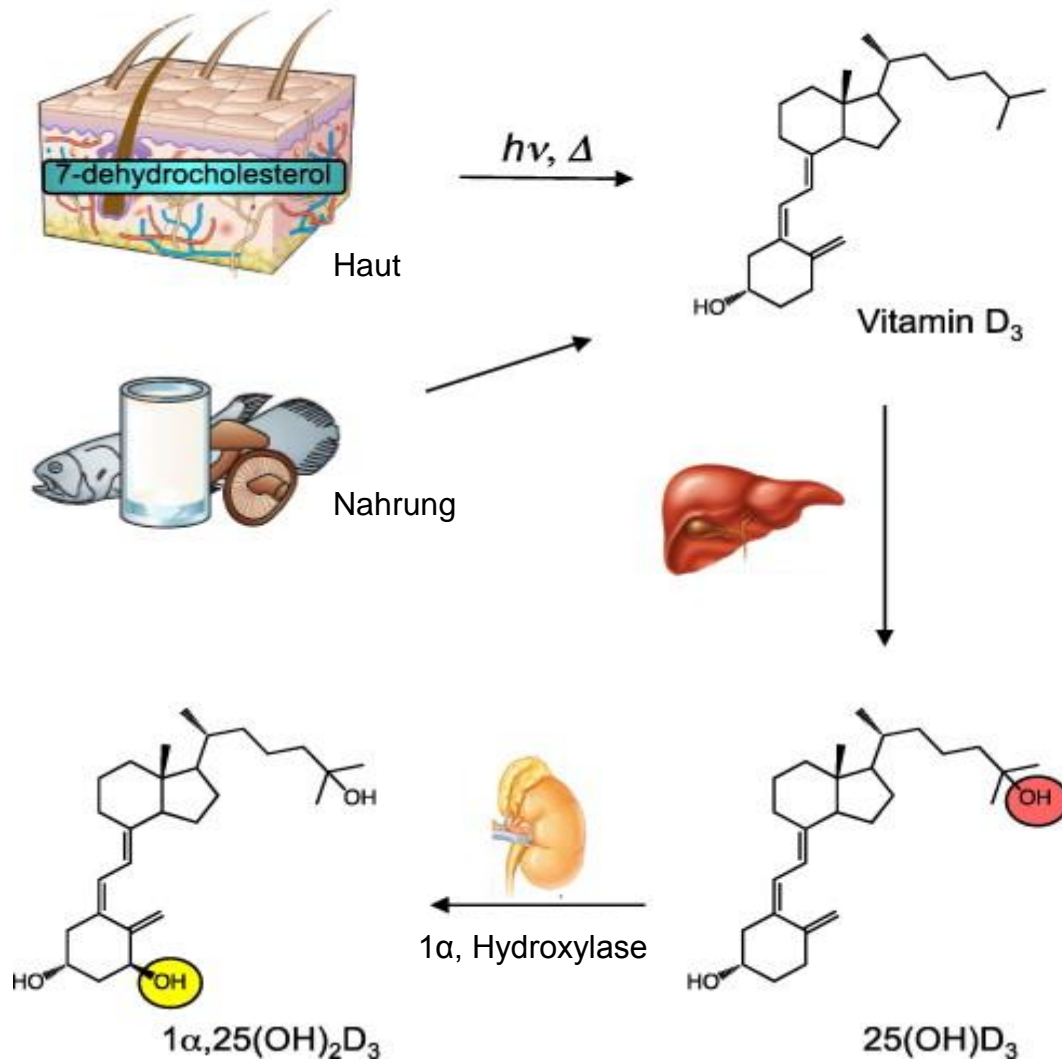


Abbildung 2.1: Die Aktivierung des in der Haut unter Einfluss von UV-Strahlung aus 7-Dehydrocholesterol synthetisierten oder mit der Nahrung aufgenommenen Vitamin D₃ in der Leber und die Hydroxylierung durch die 1α, Hydroxylase in der Niere zu $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Modifiziert nach Zhu & DeLuca (2012).

2.3 Vitamin D und Calciumhomöostase

Der Calciumspiegel im Blut wird fein reguliert. Das Steroidhormon 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, Calcitonin und Parathormon wirken auf ihre Hauptzielorgane Darm, Nieren und Knochen, um den Blutcalciumgehalt in engen Grenzen konstant zu halten.

Calcitonin

Calcitonin ist ein Polypeptid aus 32 Aminosäuren, das bei allen Vertebraten vorkommt. Bei den Säugetieren wird es in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet. Stimuliert wird die Ausschüttung von Calcitonin vor allem durch eine Erhöhung des ionisierten Calciums im Blut. Durch spezifische Calcitonin-Rezeptoren auf den Osteoklasten inhibiert Calcitonin die Knochenresorption. Daneben hemmt Calcitonin den Calciumausstrom aus den Knochen und fördert eine vermehrte Kurzzeitspeicherung von Calcium im Knochen. In der Niere inhibiert Calcitonin die Calcium- und Phosphatrückresorption. Calcitonin ist damit, im Hinblick auf die Calciumhomöostase, ein Gegenspieler von Parathormon (Avioli, 1998).

Parathormon

Parathormon wird in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse gebildet. Die Sekretion von Parathormon wird vor allem durch einen Abfall des ionisierten Blutcalciums stimuliert und durch 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gehemmt. Rezeptoren für Parathormon sind in der Niere und im Knochen zu finden. Die Wirkung von Parathormon besteht darin, den Serumcalciumspiegel zu erhöhen. An der Niere führt Parathormon zu einer gesteigerten Rückresorption von Calcium und zu einer Hemmung der Rückresorption von Phosphat. Es stimuliert die 1,α Hydroxylase in der Niere und damit die Synthese von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃. Am Knochen bewirkt Parathormon eine Mobilisierung von Calcium. Ein Anstieg von Parathormon führt also zu einer erhöhten Freisetzung von Calcium und Phosphat aus den Knochen, einer gesteigerten Rückresorption von Calcium in den Nieren und indirekt, durch eine Erhöhung des 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Siegels, zu einer Zunahme der Calciumresorption im Darm (Robinson, 1974).

1,25 Dihydroxyvitamin D₃

Das Steroidhormon 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ wird aus mit der Nahrung aufgenommenem oder in der Haut unter Einfluss von UV-Strahlung aus Cholesterin synthetisiertem Vitamin D über zwei Hydroxylierungsschritte in Leber und Niere gebildet (siehe Abb. 2.2). Aktives Vitamin D unterliegt einer Produkthemmung. In größeren Mengen hemmt 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ die 1,α Hydroxylase in der Niere, wodurch eine Hypercalcämie verhindert wird (Zhu & DeLuca, 2012). Obwohl in fast allen Geweben des Körpers Vitamin-Rezeptoren (VDR) vorhanden sind, besteht die wichtigste physiologische Wirkung in der Stimulation der Calcium- und Phosphatresorption aus dem Darm. Ein Überblick über die physiologischen Wirkungen von Calcitriol soll im Folgenden gegeben werden.

2.3.1 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ am Darm

Am Darm bewirkt 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ eine gesteigerte Calciumresorption aus dem Chymus.

Das Steroidhormon 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ bindet dabei intrazellulär an einen Rezeptor (VDR) und reguliert so die Gentranskription. Zusätzlich ist es in der Lage, eine schnelle Reaktion unabhängig von der Gentranskription hervorzurufen. Diese schnellen Effekte werden durch eine spannungsabhängige Modulation der Calciumkanäle in der Zellmembran vermittelt. So kann das Hormon innerhalb einer Minute den Calciumtransport durch die Mucosazellen einleiten. Dies scheint in den Darmzellen eine wichtige Rolle zu spielen (Massheimer *et al.*, 1994).

2.3.2 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ an den Knochen

Aus dem Knochen wird bei hohem 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegel zunächst Calcium mobilisiert. Wenn der Zustand jedoch länger bestehen bleibt wird vermehrt Calcium in die Knochen eingelagert.

Ein erhöhter 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegel steigert die Knochenresorption durch eine verstärkte Bildung von Osteoklasten. Außerdem stimuliert das Hormon die Osteoblasten, die im Gegensatz zu den Osteoklasten über einen Vitamin-D-Rezeptor verfügen, zur Ausschüttung eines Resorptionsfaktors, der die Osteoklastenaktivität stimuliert (Anderson *et al.*, 2012) (Gram *et al.*, 1996). Bei länger andauerndem

erhöhten 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Gehalt des Blutes wird die Knochenmineralisierung wahrscheinlich nicht durch eine direkte Beeinflussung der Osteoblasten gesteigert, sondern indirekt durch eine erhöhte Bereitstellung von Calcium und Phosphat, aufgrund gesteigerter intestinaler Resorption, gefördert (Rambeck, 1997).

2.3.3 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ an der Niere

An der Niere bewirkt 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ eine erhöhte Rückresorption von Calcium. Außerdem wird es in der Niere gebildet und unterliegt hier einer Produkthemmung. Die 1,α Hydroxylase, die 25 Hydroxyvitamin D₃ zu 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ hydroxyliert, wird durch das Produkt gehemmt (Zhu & DeLuca, 2012). Zusätzlich wird bei einem hohen 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Gehalt des Blutes vermehrt 24,25 Dihydroxyvitamin D₃ gebildet, welches keine biologische Funktion hat.

Eine geringe Calciumaufnahme mit der Nahrung stimuliert dagegen die Aktivierung zu 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in der Niere (Richart *et al.*, 2007). Dies macht man sich medizinisch bei der Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause des Rindes zu Nutze. Dabei wird vor der Geburt wenig Calcium angeboten um die Produktion von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ zu steigern. Wird dann nach der Geburt durch die einsetzende Laktation sehr viel Calcium benötigt, kann dieser Bedarf durch den hohen 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegel aus einem erhöhten Angebot im Futter gedeckt werden.

2.3.4 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ an der Nebenschilddrüse

An der Nebenschilddrüse ist eine wechselseitige Beziehung zwischen 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und Parathormon zu beobachten: Parathormon stimuliert die 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Synthese in der Niere, und ein hoher Spiegel des Steroidhormons senkt die Ausschüttung von Parathormon aus der mit 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Rezeptoren ausgestatteten Nebenschilddrüse. So regulieren sich die beiden Hormone gegenseitig (Rambeck, 1997).

2.3.5 Wirkung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in anderen Organen

Vitamin D-Rezeptoren werden in fast allen Organen des Körpers exprimiert. In den letzten Jahrzehnten ist deshalb viel über die Wirkung von aktivem Vitamin D auf andere als die direkt an der Calciumhomöostase beteiligten Gewebe geforscht worden.

1,25 Dihydroxyvitamin D₃ beeinflusst die Zellproliferation und Differenzierung sowohl in gesunden als auch in malignen Zelltypen. Vitamin D-Rezeptoren wurden auch in verschiedenen Zellen des Immunsystems gefunden. Die Menge des vorhandenen aktiven Vitamin D scheint für ein eventuelles Auftreten von Diabetes eine Rolle zu spielen (Mathieu *et al.*, 2004).

Vitamin D hat auch einen Einfluss auf die Gehirnentwicklung im Mutterleib. Wenn der 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegel im Blut der Mutter während der Schwangerschaft niedrig ist, scheinen die Kinder ein erhöhtes Risiko zu haben, an Schizophrenie oder Autismus zu erkranken (Eyles *et al.*, 2011).

Auch auf die psychische Gesundheit scheint Vitamin D einen Einfluss zu haben. Die Verabreichung von Vitamin D war in doppelt-blind-Studien in der Lage, die Symptome einer Depression deutlich zu verringern (Jorde *et al.*, 2009)

Die antiproliferative Wirkung von aktivem Vitamin D lässt sich auch für die Behandlung von Tumoren nutzen. In Brustkrebszelllinien lässt sich das Wachstum der Zellen durch die Verabreichung von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und seiner Analoga deutlich verlangsamen. Dieser Effekt wird auf den von der Tumorzelle ausgebildeten Vitamin-D-Rezeptor zurückgeführt (Brenner *et al.*, 1995).

2.4 Vitamin D-haltige Pflanzen

2.4.1 *Trisetum flavescens*

Das Gras Goldhafer, bzw. *Trisetum flavescens*, ist schon lange als calcinogene Pflanze bekannt. Insbesondere im Voralpenland wurde schon früh ein Zusammenhang zwischen der Calcinose bei Weidrindern und Ziegen und dem Vorkommen von Goldhafer erkannt (Dirksen *et al.*, 1970; Neumann *et al.*, 1973; Peterlik *et al.*, 1977; Rambeck *et al.*, 1979; Morris & Levack, 1982). Wobei Morris & Levack (1982) durch Versuche an Hühnern, bei denen durch Strontium die endogene Metabolisierung von Vitamin D in 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ außer Kraft gesetzt worden war, erstmals bewiesen, dass die enthaltene calcinogene Substanz der aktive Metabolit 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ ist.

Das zur Familie der Poaceae (Süßgräser) gehörende Gras ist weit verbreitet, jedoch ist der Besatz mit Goldhafer auf den Weiden des Alpenvorlands deutlich höher als in den übrigen Regionen Deutschlands (Altthaler, 1995). In den Alpen kommt das Gras bis zu einer Höhe von 2650 Metern vor und toleriert Temperaturen von -40 bis zu +40 Grad. Es wächst an Hängen mit bis zu 50% Steigung, bevorzugt aber Südhänge mit 10 bis 25% Steigung. Goldhafer wächst sowohl auf trockenen als auch auf feuchten Böden (Dixon, 1995). *Trisetum flavescens* ist eine rasenartig wachsende Pflanze, die bis zu einem Meter hoch werden kann. Die Blätter sind meist weich behaart und ca. 4 mm breit. Das Gras blüht im Mai und Juni, wobei jeweils 2 bis 3 Blüten in 5-7 mm langen goldgelben Ährchen zu sehen sind. Wird es früh geschnitten, kann es ein zweites Mal blühen. Pro Blüte ist eine Granne ausgebildet. Die Früchte sind 4 – 5 mm lange Spelzfrüchte. Die gesamte Pflanze enthält den aktiven Metaboliten 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und hat so eine calcinogene Wirkung (Rambeck *et al.*, 1987). Die Menge des enthaltenen 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ hängt von den klimatischen Bedingungen ab, in denen die Pflanze wächst (Mello & Habermehl, 1991). Simon (1980) fand heraus, dass bei längerer Verfütterung von Goldhafer bereits ein Anteil von 10 % an der Gesamtration ausreicht, um erste Anzeichen einer Calcinose hervorzurufen. So wie in der Haut von Menschen und Tieren wird auch im Goldhafer Vitamin D nur unter Einfluss von UV-Strahlung gebildet (Zucker *et al.*, 1980). Heinritzi *et al.* (1977) fanden heraus, dass die calcinogene Substanz in Goldhafer auch durch Silieren nicht beeinträchtigt wird.

2.4.2 Solanum glaucophyllum



Abbildung 2.2: Die Pflanze *Solanum glaucophyllum* aus Knapp (2002)

Solanum glaucophyllum, früher auch *Solanum malacoxylon* Sendtner genannt, ist ein Strauch, der im feuchten offenen Grasland von Südamerika beheimatet ist. Er wächst vor allem auf Lehmböden. Diese Landschaften werden gelegentlich überflutet (Tokarnia *et al.*, 2002). Die Pflanze findet sich vor allem in Argentinien, Paraguay, Uruguay, Bolivien und Brasilien und wird dort „Duraznillo blanco“ genannt. Der zur Familie der Nachtschattengewächse (Solanaceae) gehörende Strauch wird ein- bis zwei Meter hoch, hat einfache, grün-graue lanzettenförmige Blätter, hell-violette Blüten und blau-schwarze Beeren (Iriti *et al.*, 2008). *Solanum glaucophyllum* hat ein langsames, aber extensives Wachstum und entwickelt ein tiefreichendes Wurzelsystem. Das macht die Pflanze gegenüber chemischen und physikalischen Bekämpfungsmaßnahmen sehr widerstandsfähig (Tokarnia *et al.*, 2002).

Anders als *Trisetum flavescens* bildet *Solanum glaucophyllum* 1,25 Dihydroxvitamin D₃ auch ohne Bestrahlung mit UV-Licht (Curino *et al.*, 1998). Das „aktive Vitamin D“ ist nicht nur in den Blättern, sondern auch in Wurzeln, Stängeln und Beeren enthalten, wobei die höchste Konzentration in den Beeren gemessen wird (Weissenberg *et al.*, 1989). Das in *Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens* enthaltene „aktive Vitamin D“ ist durch eine glycosidische Bindung, im Gegensatz zu Vitamin D₃, welches zu den fettlöslichen Vitaminen gehört, wasserlöslich (Norrdin *et al.*, 1979; Dirksen *et al.*, 1981b). In *Solanum glaucophyllum* ist von allen bisher untersuchten Pflanzen die höchste Konzentration an 1,25 Dihydroxyvitamin D₃

vorhanden (Boland, 1986). Eine chromatographische Methode zur Messung des „aktiven Vitamin D“ in der Pflanze wurde erstmals von de Boland (1976) beschrieben.

2.4.3 Andere Vitamin D-haltige Pflanzen

Viele andere Pflanzen wurden inzwischen daraufhin untersucht, ob auch sie Vitamin D enthalten. Aburjai et al. (1998) fanden heraus, dass aus der Familie der Solanaceae *Lycopersicon esculentum* (Tomatenpflanzen) und *Solanum tuberosum* (Kartoffeln) und aus der Familie der Cucurbitaceae *Cucurbita pepo* (Zucchini) Vitamin D synthetisieren. Wobei nur in Tomatenpflanzen 25 OH D₃ enthalten war, alle anderen enthielten nur Vitamin D. Der aktive Metabolit 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ war in keiner der Pflanzen vorhanden.

Skliar et al. (2000) untersuchten *Nicotiana glauca* (Blaugrüner Tabak) und fanden heraus, dass die Pflanze in den Blättern und Wurzeln sowohl Vitamin D als auch 25 OH D₃ und sogar etwas 1,25 (OH)₂D₃ enthält.

Wasserman *et al.* (1975) zeigten für *Cestrum diurnum*, einen Strauch aus der Familie der Solanaceae, dass Substanzen mit 1,25 (OH)₂D₃ –Wirkung enthalten sein müssen. Dies wurde von Mello & Habermehl (1995) in einem Versuch an rachitischen Hühnern bestätigt.

Im südlichen Brasilien fand Rissi et al. (2009) bei Schafen nach Aufnahme von *Nierembergia veitchii* Verkalkungen der Aorta und anderer großer Blutgefäße, sowie bei ohne vorherige Anzeichen einer Erkrankung gestorbenen Tieren Lungenödeme. Dass diese Pflanze aus der Familie der Solanaceae eine calcinogene Substanz enthalten muss, wurde schon 1981 in einem Experiment an Kaninchen belegt (Riet-Correa *et al.*).

Es muss davon ausgegangen werden, dass in Zukunft noch in anderen Pflanzen Vitamin D und seine Metaboliten gefunden werden. Boland et al. (2003) glauben sogar, dass die Fähigkeit, Vitamin D zu produzieren, eine charakteristische Eigenschaft der Blütenpflanzen ist und nur bei vielen Vertretern im Laufe der Evolution verloren gegangen ist.

2.5 Bildung und Funktion des Vitamin D in Pflanzen

Eine interessante Frage ist natürlich, wozu manche Pflanzen Vitamin D und seine Metaboliten produzieren, schließlich haben sie ja keinen Knochenstoffwechsel, der auf große Mengen Calcium angewiesen ist. Eine Möglichkeit wäre, dass sie sich durch die, für Tiere toxische Substanz, vor Fressfeinden schützen (Burlini *et al.*, 2011). Dagegen spricht allerdings, dass viele Pflanzen sehr geringe Konzentrationen an aktivem Vitamin D enthalten.

Inzwischen ist bekannt, dass die Vitamin-D-Metaboliten möglicherweise eine Rolle in der pflanzlichen Zellfunktion spielen (Boland *et al.*, 2003). In vitro-Studien haben außerdem belegt, dass die Vitamin D Metaboliten in den Pflanzen das Wurzelwachstum fördern, indem sie das Ca^{2+} Botensystem stimulieren (Vega & Boland, 1986). Zudem wird diskutiert, ob Vitamin D in der Pflanze als UVB-Rezeptor fungiert (Bjorn & Wang, 2001).

Da zumindest in *Solanum glaucophyllum* nicht nur 1,25 Dihydroxyvitamin D_3 , sondern auch Cholesterin, Vitamin D und 25 Hydroxyvitamin D enthalten sind, wird vermutet, dass die Bildung in der Pflanze auf einem ähnlichen Weg wie im menschlichen und tierischen Körper erfolgt (Rosati *et al.*, 2003; Burlini *et al.*, 2011). Wahrscheinlich sind zumindest einige der calcinogenen Pflanzen in der Lage, Vitamin D sowohl wie Menschen und die meisten Tiere durch Sonneneinstrahlung in der Haut aus Cholesterin herzustellen, als auch eine lichtunabhängige Synthese zu betreiben (Boland *et al.*, 2003).

2.6 Erkrankungen durch Vitamin D-haltige Pflanzen

Die Erkrankungen, die durch die Aufnahme calcinogene Pflanzen entstehen, gehören weltweit zu den wichtigsten Vergiftungen durch Pflanzen (Mello, 2003).

Calcinose ist daher der Sammelbegriff für alle Krankheiten mit Calciumablagerungen in Geweben von Tieren. Diese Erkrankungen sind schon lange bekannt und treten in sehr ähnlicher Form weltweit auf.

2.6.1 Klinische Erscheinungen

Die Ausprägung der klinischen Erscheinungen einer Calcinose ist abhängig von der betroffenen Tierart, der Menge des aufgenommenen Wirkstoffs 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und der Dauer des hypercalcämischen Zustands (Dämmrich *et al.*, 1975). Bei Untersuchungen werden in den Sommermonaten mehr betroffene Tiere gefunden als im Winter. Dies hängt wohl mit der saisonalen Weidehaltung der Tiere zusammen (Altthaler, 1995).

Am Bewegungsapparat der betroffenen Tiere fällt zunächst eine Lahmheit der Gliedmaßen auf. Die Carpalgelenke sind leicht gebeugt, die Tarsalgelenke steif und gestreckt. Schafe „knien“ auch auf den Carpalgelenken (Dirksen *et al.*, 1970; Dirksen *et al.*, 2003). Die betroffenen Tiere liegen vermehrt (Mello, 2003). Die Bewegung ist langsam, schwankend und sichtbar schmerzhaft. Das Gewicht wird vermehrt auf die Klauenspitzen verlagert (Braun *et al.*, 2000). Die Rückenlinie der Tiere ist nach oben gebogen, die Hintergliedmaßen zeigen eine unterschiedlich ausgeprägte Muskelatrophie (Rissi *et al.*, 2009). Erkrankte Tiere fallen durch eine deutlich verringerte Futteraufnahme auf und magern ab (Riet-Correa *et al.*, 1993). Das Fell der Tiere wirkt lang, struppig und aufgehell.

Die Fertilität der Tiere ist verringert, trächtige Tiere können abortieren, und bei laktierenden Tieren sinkt die Milchleistung (Gufler *et al.*, 1999). Die Atmung der betroffenen Tiere ist ebenfalls verändert. Rippenbewegungen sind nicht mehr erkennbar, die Zwerchfellatmung dominiert. Die Atemfrequenz ist beschleunigt, die Nasenlöcher sind weit gestellt und der Hals nach vorn gestreckt. Die Herzfrequenz ist beschleunigt, die Schleimhäute der erkrankten Tiere sind blass. Häufig ist auch eine Herzrhythmie festzustellen (McGuirk & Semrad, 2005).

Der Blutbefund erkrankter Tiere zeigt eine Hypercalcämie und häufig auch eine Hyperphosphatämie (Riet-Correa *et al.*, 1993). Letztendlich kommt es zum Festliegen und Tod der Tiere (Mello, 2003).

Bei Schafen wurde in letzter Zeit auch ein akuter Verlauf mit plötzlichen Todesfällen ohne vorhergehende Krankheitsanzeichen beschrieben (Rissi *et al.*, 2009).

2.6.2 Pathogenese von Calcinosen

Nach Aufnahme der Pflanze, die den Wirkstoff 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ meist in glycosidisch gebundener Form enthält, wird zunächst die glycosidische Bindung im Pansen oder Darm durch hydrolytische Enzyme gespalten. Die so entstandene große Menge an aktivem Vitamin D stimuliert die Synthese des Calcium-bindenden-Proteins. Dadurch wird die Resorption von Calcium und Phosphat im Darm gesteigert, und es entsteht eine Hypercalcämie und/oder Hyperphosphatämie. Durch die Hypercalcämie wird die Sekretion von Parathormon verringert und die Sekretion von Calcitonin aus den C-Zellen der Schilddrüse stimuliert. Die Eigensynthese von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ wird durch die unterdrückte Nebenschilddrüsenfunktion und den hohen Serumcalcium- und Serumphosphatspiegelspiegel außer Kraft gesetzt. Durch den hohen Calcitoninspiegel, die Hypercalcämie und/oder Hyperphosphatämie entsteht eine Unterfunktion der Osteoklasten und so eine Vermehrung der Knochenmasse. Die in großen Mengen aufgenommenen Mineralstoffe können nicht physiologisch verwertet werden und werden im Weichteilgewebe abgelagert. Es wird vermutet, dass 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ die Zelldifferenzierung und die Synthese von calcifizierbarer Matrix induziert. Die entstehenden Calciumsalze werden in den großen Blutgefäßen u.a. der Aorta, im Herz, in den Nieren, Sehnen, in Bändern, im Uterus sowie in der Mucosa von Magen und Darm abgelagert (Mello, 2003).

2.6.3 Pathologisch-anatomische und histologische Befunde

Bei der Sektion verendeter, euthanasierter oder geschlachteter Tiere fallen zunächst die zahlreichen Verkalkungen auf.

Besonders betroffen sind die großen Arterien und insbesondere die Aorta, deren Intima mit Plaques bedeckt sind. Die Lungenarterien sind jedoch von den Veränderungen nicht betroffen. Auch die Herzklappen und das Endothel des Herzens sind mineralisiert (Braun, 2000). Die sogenannte „Bimssteinlunge“ ist fest und fühlt sich rau an. In der Nierenrinde finden sich weißliche Bezirke, das Mark zeigt eine weißliche, homogene Streifung. In zahlreichen Gelenkknorpeln sind granuläre Bezirke sichtbar. Die Wand des Uterus ist verdickt, verhärtet und unelastisch. Die Schilddrüse ist mit zahlreichen, unterschiedlich großen Herden durchsetzt. Auf dem Zwerchfell sind raue, mineralisierte Plaques sichtbar. Sehnen und Bänder erkrankter Tiere zeigen harte Verkalkungen. Manchmal ist auch ein Ascites feststellbar. Bei einigen Tieren ist die Leber vergrößert. Auch Thorax- und Perikardergüsse sind bei der Sektion manchmal sichtbar. Teilweise finden sich metastatische Verkalkungen, und die Knochen erkrankter Tiere sind sehr kompakt und hart (Dämmrich *et al.*, 1970; Dämmrich *et al.*, 1975; Mello, 2003).

In letzter Zeit wurden bei erkrankten Tieren auch sonographische Untersuchungen durchgeführt, diese zeigen am lebenden Tier viele der sonst erst in der Sektion sichtbaren Befunde (Gufler *et al.*, 1999; Franz *et al.*, 2007).

Bei der mikroskopischen Untersuchung bestätigen sich die makroskopisch sichtbaren Befunde:

Die elastischen Fasern der Intima und Media der Aorta und anderer Arterien sind degeneriert, auch die Basalmembran der Kapillaren, insbesondere in der Lunge, ist verdickt (Barros & Gimeno, 2000). Die kollagenen Fasern sind häufig mineralisiert. Diese Verkalkungen finden sich ebenso in Uterus, Skelettmuskulatur, Pansen, Darm, Schilddrüse, Lymphknoten und in der Milz. Die Veränderungen in den Sehnen und Bändern sind unter dem Mikroskop ähnlich denen der Arterien. Die Herzmuskelfasern können Degeneration, Nekrose oder Verkalkungen aufweisen (Barros *et al.*, 1992). Die Knorpel der Trachea und der Bronchien zeigen häufig dystrophische Verkalkungen. Die Wachstumszonen der langen Röhrenknochen mit

der Zone der proliferativen Chondrozyten scheint schmaler zu sein (Aguirre *et al.*, 2005), die Dicke der Trabekel ist erhöht (Woodard *et al.*, 1993). An den Lungensepten können Calcifizierungen und Degenerationen sichtbar sein. Die Nieren zeigen erhebliche Verkalkungen der Arterien, und es können dystrophische Herde im Intestinum zu finden sein. Die C-Zellen der Schilddrüse können hypertrophiert sein, und die übrigen Zellen sind manchmal degeneriert. Die Phagozytoseaktivität der Makrophagen ist deutlich herabgesetzt (Fontana *et al.*, 2009). Elektronenmikroskopisch wird sichtbar, dass die Muskelzellen der Aorta ihre charakteristische Differenzierung verloren haben. Zwischen einigen Muskelzellen sind kollagene Ablagerungen zu finden (Guedes *et al.*, 2011). In den elastischen Fasern sind ein elektronendichtes Band und manchmal kristalline Ablagerungen zu sehen.

2.6.4 Vorkommen von Calcinosen

Calcinosen kommen in vielen Ländern der Welt vor. Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über die Verbreitung der Erkrankung.

Tabelle 2.1 Weltweites Vorkommen von Calcinosen nach Mello (2003)

Land	Betroffene Tierarten	Auslösende Pflanze	Regionale Bezeichnung	Erstbeschreibung
Argentinien	Rind	<i>S. glaucophyllum</i>	Enteque seco	Ligne`res (1898) und Collier (1927)
	Schwein	<i>S. glaucophyllum</i>	Spontaneous <i>S. glaucophyllum</i> poisoning	Campero und Odrizola, (1990)
Brasilien	Rind	<i>S. glaucophyllum</i>	Espichamento	Pardi und Santos (1947)
	Schaf	<i>N. veitchii</i>	Calcinosis	Riet Correa et al. (1980) und Barros et al. (1970)
Uruguay	Rind	<i>S. glaucophyllum</i>	Calcinosis	Riet Correa et al. (1975)
USA (Florida)	Rind, Pferd	<i>C. diurnum</i>	<i>C. diurnum</i> poisoning	Krook et al. (1975a) und Wasserman (1975)
USA (Hawaii)	Rind, Ziege	<i>C. diurnum</i> und <i>S. torvum</i>	Naalehu disease	Krook et al. (1975a) und Wasserman (1975)
Jamaica	Rind, Ziege	<i>C. diurnum</i> und <i>S. torvum</i>	Manchester wasting disease	Arnold und Fincham (1950)
Cuba	Rind	<i>C. diurnum</i>	<i>C. diurnum</i> intoxication	Durand et al. (1999)
Neu Guinea	Rind	<i>S. torvum</i>	Calcinosis	Copland (1975)
Australien	Schaf	<i>S. esuriale</i>	Humpy back	O'Sullivan (1976)
Südafrika	Schaf	<i>S. verbascifolium</i>	Calcinosis	Tustin et al. (1973)
Israel	Schaf, Ziege	unbekannt	Vitamin D intoxication	Newman et al. (1973)
Indien	Schaf	unbekannt	Plant intoxication	Gill et al. (1976)
Nigeria	Büffel	unbekannt	Calcinosis <i>circumscripta</i>	Ikede (1979)
Österreich	Rind	<i>T. flavescens</i>	Weidekrankheit	Libiseller und Gunhold (1969)
	Pferd	<i>T. flavescens</i>	Calcinose	Köhler (1981)
Deutschland	Rind	<i>T. flavescens</i>	Enzootische Calcinose	Dirksen et al. (1970)
Schweiz	Rind, Ziege	<i>T. flavescens</i>	Enzootische Calcinose	Wanner et al. (1986)

2.6.5 Therapie und Prophylaxe von Calcinosen

Eine wirksame therapeutische Behandlung an Calcinose erkrankter Tiere konnte bisher nicht gefunden werden. Die wichtigste Maßnahme bei Auftreten einer Erkrankung ist daher das sofortige Verbringen der Tiere auf eine unbelastete Weide, bzw. das Absetzen des auslösenden Futtermittels. Die calcinotischen Veränderungen sind nur teilweise reversibel, und die Rekonvaleszenz ist sehr zeitaufwändig (Hänichen & Hermanns, 1990).

Der Prophylaxe der Erkrankung kommt daher eine besondere Bedeutung zu. Der Besatz mit calcinogenen Pflanzen ist durch Düngung und die Art der Nutzung beeinflussbar (Libiseller *et al.*, 1976). Beispielsweise konnte in Südbayern durch häufigeres Mähen der Wiesen und die Herausnahme von Goldhafer aus den Wiesensaatgutmischungen der Besatz auf den Weiden deutlich verringert werden. Wurden 1977 noch bei rund 55 % der Schachtkühe aus dem Voralpengebiet Lungenverkalkungen festgestellt, so hat sich diese Zahl bis zum Jahr 1995 Jahr auf 0,2 % verringert. Die durch Goldhafer ausgelöste klinische Erkrankung Calcinose kann somit im süddeutschen Raum als getilgt bezeichnet werden (Altthaler, 1995).

2.6.6 Wirtschaftliche Bedeutung von Calcinosen

Die wirtschaftlichen Verluste durch Calcinosen zu beziffern ist sehr schwierig. Besonders in den Gebieten, in denen *Solanum glaucophyllum* endemisch ist, erkranken zwischen 8 und 12% der Tiere an einer Calcinose. In Argentinien wird der wirtschaftliche Schaden allein im Jahr 1977 auf 300 Millionen US \$ geschätzt. In anderen Ländern, in denen calcinogene Pflanzen endemisch sind, ist die Zahl der betroffenen Tiere unbekannt.

Die wirtschaftlichen Schäden entstehen dabei weniger durch den Totalverlust der Tiere als durch Leistungseinbußen. Diese setzen sich aus Gewichtsverlust, schlechterer Futtermittelverwertung, Fruchtbarkeitsstörungen, schlechterer Fleischqualität, verlängerten Mastzeiten und einer erhöhten Anfälligkeit für andere Erkrankungen zusammen (Mello, 2003).

2.7 Möglichkeiten der Nutzung Vitamin D-haltiger Pflanzen in der Medizin

2.7.1 Einsatz Vitamin D-haltiger Pflanzen in der Tiermedizin

2.7.1.1 Zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese

Die hypocalcämische Gebärparese (Festliegen, Milchfieber, Gebärkoma) des Rindes ist eine seit langer Zeit bekannte und sehr bedeutende Erkrankung der Milchkuh.

Als Risikofaktoren für das Auftreten der hypocalcämischen Gebärparese gelten eine calciumreiche Fütterung während der Trockenstehzeit (Barlet & Ross, 1984), die Laktationszahl der Kuh, eine hohe Einsatzleistung (Fleischer *et al.*, 2001) und genetische Faktoren. Die Inzidenz schwankt je nach Betrieb zwischen 5 und 10 %, kann aber in einzelnen Betrieben bis zu 25% betragen (DeGaris & Lean, 2008).

Die Symptome einer hypocalcämischen Gebärparese des Rindes sind neuromuskuläre Dysfunktion mit schlaffer Lähmung, Kreislaufkollaps und ein gestörtes Sensorium (Oetzel, 2011).

Die Erkrankung ist in erster Linie eine Adaptationsstörung. Während am Ende der Trächtigkeit nur etwa 30 Gramm Calcium pro Tag benötigt werden (15 Gramm für das fetale Wachstum und 15 Gramm als Verlust über den Kot), verliert eine Kuh zu Beginn der Laktation bis zu 50 Gramm Calcium pro Tag allein über die Milch. Da körpereigene Adaptationsmechanismen, wie eine erhöhte Resorption von Calcium aus dem Darm, höhere Rückresorption in der Niere und vermehrte Freisetzung aus den Knochen einige Zeit benötigen, kommt es bei allen Tieren im peripartalen Zeitraum zu einem erniedrigten Serumcalciumspiegel (DeGaris & Lean, 2008). In den letzten Jahren rückt auch die sogenannte subklinische Hypocalcämie in den Focus der Forschung. Dabei liegen die Tiere zwar nicht fest, sind aber prädisponiert für viele Erkrankungen wie Mastitiden, Schweregeburten, Nachgeburtsverhalten, Labmagenverlagerungen und Ketosen (Reinhardt *et al.*, 2011).

Wegen der großen wirtschaftlichen Bedeutung der Erkrankung wird seit Jahrzehnten intensiv an einer wirksamen Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes geforscht (Goff, 2008), (Goff *et al.*, 1991), (Horst *et al.*, 1997), (Hibbs & Pouden, 1955) und viele andere. Neben fütterungstechnischen Methoden kommt der prophylaktischen Verabreichung von Vitamin D und seiner Metaboliten dabei eine entscheidende Rolle zu (Barlet & Davicco, 1992), (Wilkins *et al.*, 2012), (Muir *et*

al., 1968). Synthetisches Vitamin D und seine Metaboliten werden dabei meist injiziert. Allerdings verursacht die wegen der Lipophilie des Vitamins nötige ölige Formulierung des Präparates immer wieder Schocksymptome. Außerdem ist die für eine wirksame Prophylaxe nötige Dosis sehr hoch und kann metastatische Verkalkungen des Bindegewebes hervorrufen (Goff, 2008). Eine bessere Möglichkeit der Prophylaxe stellt die Applikation von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ dar, aber es bleibt das Problem, dass der Geburtszeitpunkt nicht genau vorausgesagt werden kann, und eine zu frühe Verabreichung die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung erhöht (Goff & Horst, 1990). Dazu kommt, dass synthetisch hergestelltes 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ sehr teuer ist. Deshalb wurden schon bald nach dem Nachweis der Vitamin D Metaboliten in calcinogenen Pflanzen Studien zu einem möglichen Einsatz zur Milchfieberprophylaxe durchgeführt.

Dirksen (1981a) trocknete und pelletierte das Gras *Trisetum flavescens*. Die so hergestellten Cobs wurden von Buchelt (1986) auf ihre Eignung zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärdparese untersucht. Es stellte sich jedoch heraus, dass die Tiere die erforderliche Menge von fünf bis sechs Kilo pro Tag nicht aufnehmen konnten. Die in *Trisetum flavescens* enthaltene Menge an 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ ist zu gering, um aus dem Gras ein praktikables Präparat zur Milchfieberprophylaxe herstellen zu können.

Da der Gehalt an 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in *Solanum glaucophyllum* deutlich höher ist, wurden damit auch schon früh Versuche zu einer möglichen Beeinflussung des Serumcalcium- und Serumphosphatpiegelspiegels im peripartalen Zeitraum bei Milchkühen durchgeführt.

Roux et al. (1979) gaben vier Jerseykühen sieben Tage lang (acht bis zwei Tage vor der Geburt) jeweils 34 Gramm getrocknete Blätter von *Solanum glaucophyllum* und untersuchten den Einfluss auf den Serumcalcium, Serumphosphat und – Serummagnesiumspiegel. Verglichen mit einer Kontrollgruppe fanden sie dabei deutlich höhere Calcium- und Phosphatwerte. Ein Absinken der Spiegel auf subnormale Werte nach der Geburt konnte so verhindert werden. In einem weiteren Versuch, in dem vier Tage lang jeweils 25 Gramm getrockneter Blätter verfüttert worden waren, fanden sie auch bei den neugeborenen Kälbern deutlich höhere Serumcalcium- und Serumphosphatpiegelsiegel. Auch das Kolostrum der behandelten Tiere wies einen höheren Gehalt an Calcium, Phosphat und Magnesium auf.

In einer weiteren Studie untersuchte Kunz (1977) die Wirkung eines wässrigen Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* an trockenstehenden Kühen und konnte eine deutliche Erhöhung des Serumphosphat-, nicht jedoch des Serumcalciumspiegels, feststellen. Der Vergleich zwischen oraler und parenteraler Applikation zeigte deutlich bessere Erfolge der oralen Verabreichung. Die Autoren führten dies auf die schnellere Verfügbarkeit am Zielort, den Mucosazellen, zurück.

Etwas später untersuchte Kunz (1981) die Wirkung von *Solanum glaucophyllum* mit besonderem Augenmerk auf die Toxizität. Nach Verfütterung von 10 bzw. 20 Gramm gemahlener Blätter über fünf Tage kam es nach 19 bis 31 Tagen zu Verkalkungen der Aorta abdominalis. Er folgerte daraus, dass alle bis dahin eingesetzten Dosierungen eine calcinogene Nebenwirkung gehabt haben müssen.

Auch Fricke (1985) führte eine Studie zur Prävention der hypocalcämischen Gebärpause mittels *Solanum glaucophyllum* durch. Er verabreichte 15 Gramm zwei Tage vor-, und einen Tag nach der Geburt und konnte damit ein Festliegen der Tiere verhindern. Eine alleinige Gabe vor der Geburt reichte in dieser Studie nicht aus. Klinische Anzeichen von Verkalkungen konnten nicht festgestellt werden.

Horst et al. (2003) untersuchten, ob bei Kühen, die in der Trockenstehphase eine ansäuernde Diät erhielten, mit *Solanum glaucophyllum* ein zusätzlicher positiver Effekt auf die Inzidenz von Milchfiebererkrankungen erreicht werden kann. Dazu fütterte er neun Jerseykühe, die schon mehrfach gekalbt hatten, mit einer ansäuernden Diät und gab fünf von ihnen zusätzlich zwei bis drei Gramm *Solanum glaucophyllum* pro Tag in Gelatinekapseln, durchschnittlich von sechs Tagen vor der Geburt bis 14 Tage nach der Geburt. Obwohl aus der Kontrollgruppe kein Tier fest lag war doch deutlich, dass die Tiere, die zusätzlich *Solanum glaucophyllum* erhalten hatten, an den beiden ersten Tagen nach der Geburt deutlich höhere Serumcalciumwerte aufwiesen, als die Kontrolltiere. Auch die subklinische Hypocalcämie war bei den Tieren, die zusätzlich *Solanum glaucophyllum* erhielten, geringer ausgeprägt. Allerdings entwickelten alle Tiere der *Solanum*-Gruppe sechs bis acht Tage nach Ende der Behandlung eine ein bis zwei Tage andauernde Hypocalcämie. Ein Tier lag fest. Die Serumcalciumgehalte nach Absetzen des Präparates lagen sehr deutlich unter denen der Kontrollgruppe. Er folgerte daraus, dass durch die Gabe des *Solanum* Präparates die körpereigenen Regulationsmechanismen zur Calciumhomöostase außer Kraft gesetzt wurden, und der Körper nach dem plötzlichen Absetzen des Präparates zeitweise nicht mehr in

der Lage war, den Serumcalciumspiegel im physiologischen Bereich zu halten. Nach diesen Erkenntnissen führte die Arbeitsgruppe eine weitere Studie durch, in der den Tieren zunächst fünf Tage vor der Geburt bis sieben Tage nach der Geburt je zwei Gramm *Solanum glaucophyllum* pro Tag gefüttert wurden, dann von Tag acht bis Tag 14 nach der Geburt je ein Gramm und zuletzt, von Tag 15 bis Tag 21 pp, je 0,5 Gramm *Solanum* pro Tier und Tag verabreicht wurden. So konnte ein Absinken des Serumcalciumspiegels nach Absetzen des Präparates verhindert werden. Auch zwei Wochen nach der letzten Gabe waren die Werte noch im physiologischen Bereich. Daraus wurde gefolgert, dass *Solanum glaucophyllum* erfolgreich zur Milchfieberprophylaxe eingesetzt werden kann, wenn es danach nicht abrupt abgesetzt, sondern ausgeschlichen wird.

In einer Feldstudie verabreichte Schlötterer-Wieser (2008) kalbenden Kühen 5 Gramm *Solanum glaucophyllum* 24 bis 72 Stunden vor der Geburt. Milchfiebererkrankungen traten in der Studie nicht auf, es blieb jedoch die Problematik des schwer vorauszusehenden Geburtszeitpunkts.

Kehrle (2011) untersuchte an Färsen den Effekt verschiedener Retardformen in Bolusform im Hinblick auf ihre Wirksamkeit und Wirkdauer. Die Wirkung war vergleichbar mit der des synthetisch hergestellten 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, die Wirkdauer war jedoch mit etwa elf Tagen deutlich länger. Sie untersuchte auch die Calcium- und Phosphatexkretion über den Urin und konnte dort sehr hohe Werte messen.

2.7.1.2 Zur Prophylaxe der Tibia Dyschondroplasie beim Geflügel

Derzeit ist die Prophylaxe der Tibia Dyschondroplasie der einzige kommerzielle Einsatz calcinogener Pflanzen.

Die Broilermast hat in den letzten Jahrzehnten sehr stark an Effektivität gewonnen. Die täglichen Zunahmen der Tiere wurden deutlich gesteigert und der Futterverbrauch dabei gesenkt. Heute sind für die Mast eines Hühnchens nur noch 33 Tage nötig, und die Besatzdichten konnten deutlich gesteigert werden.

Allerdings prädisponiert dieses schnelle Wachstum die Tiere für Skeletterkrankungen wie Rachitis und Tibia Dyschondroplasie (Dinev, 2012).

Bei der Tibia Dyschondroplasie handelt es sich um eine bedeutende Skeletterkrankung des wachsenden Geflügels, bei der der Knorpel in der proximalen Tibia und im Tarsometatarsus nicht in der Lage ist, Knochen zu bilden. Diese Ossifikationsstörung entsteht durch eine mangelhafte Vaskularisation der Wachstumsfuge und hat ein überschießendes Knorpelwachstum zur Folge. Daraus entsteht eine veränderte Biomechanik der Knochen mit der Folge von Knochendeformation, verändertem Gangbild und sogar Frakturen (Waldenstedt, 2006). Die Ätiologie dieser Erkrankung ist noch nicht vollständig aufgeklärt, aber das Calcium/Phosphat-Verhältnis der Ration und der 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegel im Serum spielen eine wichtige Rolle. Parkinson et al. (1996) fanden in ihrer Studie an wachsenden Masthähnchen heraus, dass erkrankte Tiere deutlich geringere 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Werte aufweisen als gesunde Broiler. Neben der Optimierung der Mineralstoffzusammensetzung des Futters spielt deshalb die Versorgung der Tiere mit ausreichend Vitamin D eine entscheidende Rolle. Edwards (1989) fand heraus, dass 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ im Futter in der Lage ist, Tibia Dyschondroplasie bei wachsenden Hühnerküken zu verhindern. Dies wurde später von Whitehead (1995) bestätigt. Von Rambeck & Zucker (1985) wurde ein synergistischer Effekt von 25 Hydroxyvitamin D₃ und 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ bei der Behandlung rachitischer Tiere nachgewiesen.

Chennaiah et al. (2007) führten eine Studie zur Inzidenz von Tibia Dyschondroplasie bei wachsenden Broilern durch. In einer vorhergehenden Studie hatten sie belegt, dass der Strauch *Cestrum diurnum* 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ enthält. Nun verabreichten sie Broilern ein Futter, das einen Zusatz von 0,25 % von gemahlener

Cestrum diurnum Blättern enthielt und konnten, verglichen mit einer Kontrollgruppe, eine deutlich geringere Inzidenz von Tibia Dyschondroplasie feststellen.

Eine ähnliche Studie führte Cheng (2004) mit *Solanum glaucophyllum* und einem Zusatz von Phytase durch. Im Futter kann Phytinsäure enthalten sein, das Calcium bindet, so dass es für das Tier nicht mehr verfügbar ist. Das Enzym Phytase spaltet die Phytinsäure. Er konnte durch 1200 IE Phytase in Kombination mit 7,5 Gramm *Solanum glaucophyllum* pro Kilogramm Futter den Calcium- und Phosphatspiegel im Blut und den Mineralstoffgehalt in den Knochen erhöhen. Außerdem konnte er durch diese Behandlung die tägliche Gewichtszunahme der Broiler steigern.

Bachmann et al. (2012) untersuchten in einer aktuellen Studie den Effekt einer Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* an Broilern. Dabei gaben sie verschiedenen Gruppen ein Präparat, das eine unterschiedlich hohe Konzentration 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro kg Futter, teils aus *Solanum glaucophyllum*, teils synthetisch hergestellt, enthielt und untersuchten nach 14 Tagen die Gewichtszunahme der Tiere sowie die Stabilität der Tibiaknochen. Die Gruppe, die die größere Menge *Solanum glaucophyllum* erhielt, zeigte dabei die höchste Gewichtszunahme, und alle Gruppen, die den Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* erhalten hatten, zeigten, verglichen mit der Kontrollgruppe, deutlich bruchfestere Tibiaknochen. Die Inzidenz für Tibia Dyschondroplasie konnte von 31% in der Kontrollgruppe auf deutlich geringere Werte bis sogar null in den anderen Gruppen gesenkt werden. Sie schlossen daraus, dass die Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum*, in dem 10 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ enthalten sind, eine effiziente und sichere Methode darstellt, die Tibia Dyschondroplasie bei Broilern deutlich zu reduzieren.

2.7.1.3 Zur Optimierung der Eischalenqualität bei Legehennen

Der Calciumstoffwechsel bei Legehennen ist aufgrund der sehr hohen Eiproduktion enorm leistungsfähig. Es werden etwa 10% des gesamten im Körper vorhandenen Calciums täglich umgelagert (Arie, 2008). Mit zunehmendem Alter sinken jedoch die Eiproduktion und die Schalendicke der gelegten Eier (Joyner *et al.*, 1987). Dies liegt wohl an einer mit zunehmendem Alter immer geringeren Aktivität der Hydroxylasen in Leber und Niere (Chennaiah *et al.*, 2004). Im Interesse der Wirtschaftlichkeit, aber

auch des Tierschutzes, wird jedoch eine möglichst lange Nutzungsdauer der Tiere angestrebt. Frost et al. (1990) konnte zeigen, dass ein Zusatz von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Eischalendicke, Eiproduktion, Eigewicht, Futteraufnahme und die Stabilität der Tibiaknochen der Henne deutlich steigern kann. Aufgrund der hohen Kosten für synthetisch hergestelltes 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ stellen die calcinogenen Pflanzen eine interessante Möglichkeit der Versorgung der Tiere mit aktivem Vitamin D dar.

Morris et al. (1977) untersuchte den Effekt eines 3,5 % Zusatzes von *Solanum glaucophyllum*-Blättern auf die Eischalendicke von Legehennen und konnte eine deutliche Steigerung der Dicke am zweiten und dritten Tag nach der Verabreichung feststellen.

Chennaiah et al. (2004) untersuchte den Einfluss von *Cestrum diurnum*, einem Strauch aus der Familie der Solanaceae, auf die Eischalendicke von Legehennen. Dazu teilte er fünfzehn Wochen alte Legehennen in vier Gruppen von je 60 Tieren ein: Eine Gruppe erhielt eine für Legehennen gebräuchliche Ration, die Vitamin D₃ enthielt, eine Gruppe bekam die gleiche Diät mit zusätzlich 0,3 % *Cestrum diurnum*, die dritte Gruppe erhielt die selbe Ration ohne Vitamin D₃ Zusatz und ohne *Cestrum diurnum*, und die letzte Gruppe bekam die Ration ohne Vitamin D₃, aber mit 0,3% *Cestrum diurnum*. Der Versuch wurde bis zur 72. Lebenswoche der Tiere durchgeführt. Dabei wurden wöchentlich die Futteraufnahme und täglich die Eiproduktion dokumentiert. Das Gewicht der Eier, die für die Produktion eines Eies nötige Futteraufnahme und die Dicke der Eischalen wurden ermittelt. Dabei fand er heraus, dass die Aufnahme der *Cestrum diurnum* Blätter den größten Effekt auf alle untersuchten Parameter hatte. Die mit *Cestrum diurnum* gefütterten Hühner zeigten eine bessere Futterverwertung, und die gelegten Eier hatten eine signifikant dickere Schale, sowie eine deutlich geringere Bruchrate. Er folgerte aus dieser Studie, dass ein Zusatz von *Cestrum diurnum* Blättern eine gute Möglichkeit zur Reduktion der Bruchrate von Hühnereiern ist.

2.7.2 Untersuchungen zu einem möglichen Einsatz Vitamin D haltiger-Pflanzen in der Humanmedizin

2.7.2.1 Zur Behandlung der postmenopausalen Osteoporose

Die postmenopausale Osteoporose ist eine sehr häufige Erkrankung älterer Frauen. Sie ist gekennzeichnet durch eine Abnahme der Knochendichte und eine erhöhte Anfälligkeit für Frakturen, insbesondere der distalen Ulna und der Beckenknochen. Von den heute 50ig jährigen Frauen mit normaler Knochendichte werden etwa 40% im Laufe ihres weiteren Lebens an Osteoporose erkranken, wenn keine Prophylaxemaßnahmen erfolgen. Etwa 15 % der Frauen wird eine Hüftfraktur erleiden, und etwa jede zehnte von ihnen wird an den Folgen sterben (Scheiber & Torregrosa, 1998). Neben den enormen Belastungen durch die Erkrankung für die betroffenen Patienten ist auch der volkswirtschaftliche Schaden immens (Krappweis *et al.*, 1999). Deshalb wird schon lange an geeigneten Prophylaxe- und Therapiemaßnahmen geforscht.

Da bei älteren Personen in den Nieren weniger 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gebildet wird und im Darm die Ansprechbarkeit der Rezeptoren auf 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ sinkt, wird weniger Calcium resorbiert, und es entsteht eine negative Calciumbilanz im Körper (Ikeda & Ogata, 2000).

Diese Art des Vitamin D-Mangels, der besonders bei an Osteoporose erkrankten Patienten zu beobachten ist, lässt sich nicht durch die Verabreichung von Vitamin D, sondern nur durch seinen aktiven Metaboliten, 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ beheben (Lau & Baylink, 1999).

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde von Von Rosenberg *et al.*(2007) eine Studie am „Small Animal Model“, der ovariektomierten Ratte, durchgeführt. Dabei fand sich ein sehr deutlicher knochenprotektiver Effekt durch die Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens*. Da Patienten häufig ein pflanzliches Medikament einem pharmazeutisch hergestellten vorziehen, wäre ein solcher Extrakt aus einer calcinogenen Pflanze ein sinnvoll einsetzbares Therapeutikum. Jedoch wurden bisher noch keine Studien dazu am Menschen durchgeführt.

2.7.2.2 Zur Behandlung der renalen Osteodystrophie

Auch die renale Osteodystrophie wäre ein mögliches Einsatzgebiet für ein Medikament, das aus einer calcinogenen Pflanze hergestellt wurde.

Von Herrath et al. (1977) führte dazu eine Studie an Ratten und an Menschen, die Dialysepatienten waren, durch. Er fand heraus, dass die Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* zu einer erhöhten Calciumresorption aus dem Darm führt.

Casco et al.(1977) griffen den Gedanken auf und verabreichten Dialysepatienten sechs Tage lang einen Extrakt aus *Solanum glaucophyllum*. Auch sie konnten einen durch die gesteigerte Calciumresorption aus dem Darm erhöhten Serumcalciumspiegel feststellen. Sie folgerten daraus, dass die Pflanze als Alternative zu synthetisch hergestelltem 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ bei Nierenerkrankungen eingesetzt werden könnte.

Da es jedoch zu diesem Zeitpunkt noch nicht möglich war, die genaue Menge des enthaltenen Wirkstoffes in der Pflanze zu bestimmen, und diese in Abhängigkeit von den Wachstumsbedingungen stark schwankt (Curino *et al.*, 2001), wurden keine weiteren Studien zu Einsatz calcinogener Pflanzen in der Humanmedizin durchgeführt.

3 Material und Methoden

3.1 Studienziel

In der vorliegenden Arbeit sollte die Wirkung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* auf verschiedene Serum-, Urin-, sowie Milchparameter an laktierenden Milchkühen untersucht werden. Hierzu wurde der Extrakt in Versuch 1 über 10 Tage oral verabreicht und in Versuch 2 acht Mal im zweitägigen Abstand gegeben. Blut, Urin und Milchproben wurden vor Beginn des Versuches, mehrmals währenddessen und nach Abschluss der Verabreichung bis zum Erreichen der Ausgangswerte untersucht.

Die Studie wurde in 2 Versuchsdurchgänge unterteilt.

3.2 Versuchstiere

Für die vorliegende Studie wurden 12 laktierende Milchkühe der Rassen Fleckvieh, Holstein Friesian und Kreuzungen der beiden Rassen verwendet. Die Tiere waren zwischen 2,5 und 12 Jahren alt und befanden sich in der 1. bis 9. Laktation, in der 8. bis 12. Laktationswoche. Sie waren in einem Laufstall untergebracht, der mit Tiefstreuliegeboxen und einem mit Gummimatten belegten Laufgang aus Betonspalten ausgestattet war. Der Futtertisch war mit Selbstfangfressgitter vom Laufgang abgetrennt. Gemolken wurden die Tiere von einem Melkroboter der Firma Lely (Astronaut A3 Next, Fa EDER, Tuntenhausen), der bei jeder Melkung verschiedene Parameter, wie das Körpergewicht der Tiere und die tägliche Milchmenge, erfasste. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich mit einer Total Mixed Ration, bestehend aus Grassilage, Maissilage, Heu, Sojaschrot, Sojaöl, dem unten genannten Milchleistungsfutter und einem Mineralfutter. Die TMR sollte den Erhaltungsbedarf der Tiere abdecken, sowie die nötige Energie für eine Milchleistung von 25 Litern liefern. Außerdem erhielten die Kühe bei jeder Melkung entsprechend ihrer darüber hinaus gehenden Milchleistung ein Milchleistungsfutter zugeteilt. Tabelle 3.1. zeigt die in der Studie eingesetzten Tiere.

Tabelle 3.1: Rasse, Geburtsdatum, Laktationsstadium und Gewicht bei Beginn der Studie

Kennnummer	Rasse	Geburtsdatum	Laktation	Kalbedatum	Gewicht
323	Kreuzung	22.01.2003	6	16.09.2010	689
397	Kreuzung	15.05.2005	4	04.09.2010	690
420	Fleckvieh	14.02.2006	3	07.09.2010	848
421	Kreuzung	15.04.2006	3	20.09.2010	791
468	Kreuzung	03.05.2007	2	17.09.2010	738
491	Kreuzung	08.09.2007	1	10.09.2010	537
498	Fleckvieh	14.10.2007	1	08.09.2010	677
499	Kreuzung	11.07.2008	1	08.09.2010	591
659	Kreuzung	19.01.2000	9	07.10.2010	832
736	Kreuzung	26.11.2002	6	16.09.2010	661
785	Fleckvieh	11.12.2004	4	12.10.2010	731
793	Kreuzung	29.03.2005	4	08.10.2010	747

3.3 Testsubstanz

Bei der Testsubstanz handelt es sich um einen wasserlöslichen Extrakt aus der Pflanze *Solanum Glaucophyllum* (HERBONIS ANIMAL HEALTH Ltd., Basel). Es lag als Granulat vor, das mit Apfeltrester zur Erhöhung der Schmackhaftigkeit, sowie mit Dolomit, um ein Herabsinken des Präparates auf den Pansengrund zu erreichen, versetzt wurde. Außerdem wurde als Bindemittel Polyvinylpyrrolidon (PVP) zugesetzt. Die genaue Zusammensetzung lautet:

25% Panbonis® 10 ppm

50% Apfeltrester

15% PVP

10% Dolomit

3.4 Applikation

Da die Verabreichung von Medikamenten und Ergänzungsfuttermitteln an Rinder mittels eines Bolus mit einer Belastung der Tiere einhergeht und dabei ein nicht zu vernachlässigendes Verletzungsrisiko (Metzner & Mann, 2011) für die Tiere besteht, wurde in der vorliegenden Studie eine Verabreichung mit Krafffutter aus einem Eimer erprobt. Dazu wurden die Tiere über 8 Wochen vor dem Versuchsbeginn jeweils zweimal pro Woche aus einem Eimer mit Krafffutter gefüttert, um sie daran zu gewöhnen, aus einem Eimer zu fressen. Dabei wurden ihnen eingeweichte Zuckerrübenschnitzel angeboten. Normalerweise werden die Tiere nur am Futtertisch und im Melkroboter gefüttert. Aus Gründen der besseren Praxistauglichkeit wurde allen Tieren unabhängig von ihrem Körpergewicht jeweils 10 Gramm eines Präparates, das 10ppm 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, in glycosidisch gebundener Form enthält, verabreicht. Somit erhielt jede Kuh 25 µg aktives Vitamin D₃ pro Tag in Versuch 1, bzw. jeden zweiten Tag in Versuch 2. Für die genaue Dosierung des Wirkstoffs siehe Tabelle 3.2.

Tabelle 3.2 Tiernummer Gewicht und Dosierung in μg pro kg Körpermaße und Tag sowie Gesamtdosis von Versuch 1 und 2

Tier Nr.	Gewicht in kg	Dosierung $\mu\text{g/kg}$ KM und Tag, Versuch1	Dosierung $\mu\text{g/kg}$ KM jeden 2. Tag, Versuch 2	Gesamtdosis Versuch 1 in $\mu\text{g/kg}$ KM	Gesamtdosis Versuch 2 in $\mu\text{g/kg}$ KM
323	689	0,036	0,036	0,36	0,21
397	690	0,036	0,036	0,36	0,21
420	848	0,029	0,029	0,29	0,17
421	791	0,031	0,031	0,31	0,19
468	738	0,033	0,033	0,33	0,20
491	537	0,046	0,046	0,46	0,27
498	677	0,037	0,037	0,37	0,22
499	591	0,042	0,042	0,42	0,25
659	832	0,030	0,030	0,30	0,18
736	661	0,038	0,038	0,38	0,22
785	731	0,034	0,034	0,34	0,20
793	747	0,033	0,033	0,33	0,20

3.5 Versuchsplan

Tabelle 3.3 Plan für den 1. Versuch, tägliche Verabreichung

Tag	Probenahme	Verabreichung
Tag-3	Blut/Urin/Milch	
Tag 0	Blut/Urin/Milch	1.Verabreichung
Tag 1	Milch	2.Verabreichung
Tag 2	Blut/Urin/Milch	3.Verabreichung
Tag 3	Milch	4.Verabreichung
Tag 4	Milch	5.Verabreichung
Tag 5	Blut/Urin/Milch	6.Verabreichung
Tag 6	Milch	7.Verabreichung
Tag 7	Milch	8.Verabreichung
Tag 8	Milch	9.Verabreichung
Tag 9	Blut/Urin/Milch	10.Verabreichung
Tag 12	Blut/Urin/Milch	
Tag 16	Blut/Urin/Milch	
Tag 19	Blut/Urin/Milch	
Tag 23	Blut/Urin/Milch	
Tag 26	Blut/Urin/Milch	
Tag 30	Blut/Urin/Milch	

Tabelle 3.4 Plan für den 2. Versuch, Verabreichung jeden 2. Tag

Tag	Probenahme	Verabreichung
Tag-3	Blut/Urin/Milch	
Tag 0	Blut/Urin/Milch	1.Verabreichung
Tag 1	Milch	
Tag 2	Blut/Urin/Milch	2.Verabreichung
Tag 3	Milch	
Tag 4	Milch	3.Verabreichung
Tag 5	Blut/Urin/Milch	
Tag 6	Milch	4.Verabreichung
Tag 7	Milch	
Tag 8	Milch	5.Verabreichung
Tag 9	Blut/Urin/Milch	
Tag 10	Milch	5 g
Tag 12	Blut/Urin/Milch	3g
Tag 14	Milch	1 g
Tag 16	Blut/Urin/Milch	
Tag 19	Blut/Urin/Milch	
Tag 23	Blut/Urin/Milch	
Tag 26	Blut/Urin/Milch	
Tag 30	Blut/Urin/Milch	
Tag 33	Blut/Urin/Milch	

3.6 Probenentnahme

3.6.1 Futterproben

Die Futterproben von der TMR (Total Mixed Ration) wurden zu Beginn des ersten Versuchs, bei dessen Abschluss und ganz zum Schluss beider Versuche frisch vom Futtertisch entnommen, direkt nachdem vom Futtermischwagen neues Futter vorgelegt worden war. Es wurde in Plastikbeutel verpackt und bis zur Analyse bei -18 Grad gelagert. Die Proben vom Milchleistungsfutter wurden aus dem Vorratsbehälter entnommen. Während beider Versuche wurde Milchleistungsfutter von einer Charge verwendet, deshalb wurde nur jeweils eine Probe gezogen. Auch diese Futterproben wurden bis zur Analyse bei -18 Grad gelagert.

3.6.2 Blutproben

Die Tiere wurden zur Entnahme der Blut- und Urinproben im Fressgitter fixiert. Die Blutentnahme erfolgte aus der V. coccygea. Dabei wurde der Schwanz senkrecht gestellt und die V. coccygea mittels Vacuette (18 G Kanüle, FA GREINER, Essen) punktiert. Bei einigen Tieren war es aus Sicherheitsgründen notwendig, sie dabei zusätzlich mit einem Strickhalter am Kopf zu fixieren. Das Blut wurde bis zur Gerinnung bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert, in 1,5 ml Eppendorfcups überführt und das Serum bis zur Untersuchung bei -18 Grad gelagert.

3.6.3 Urinproben

Der Spontanurinabsatz wurde durch sanftes bis kräftiges Streichen ventral der Vulva in dorso-ventraler Richtung mit einem Strohbündel provoziert. Der so gewonnene Mittelstrahlurin wurde in 120ml Urinbechern aufgefangen und bis zur Untersuchung bei -18 Grad gelagert.

3.6.4 Milchproben

Die Milchproben wurden in der Regel vom Melkroboter (Lely Astronaut A3 Next, FA EDER, Tuntenhausen) bei der normalen Melkung kontinuierlich entnommen, anschließend in 60 ml Schraubbecher umgefüllt und bis zur Untersuchung bei -18 Grad gelagert. In einigen Fällen war die Gewinnung mit dem Roboter nicht möglich, weil manche Tiere zeitweilig wegen Erkrankungen aus dem Laufstall entfernt werden mussten. In diesen Fällen erfolgte die Milchprobenentnahme vor der Melkung mit der Hand.

3.7 Untersuchte Parameter

3.7.1 Serum

3.7.1.1. Calcium, Kalium und Natrium

Die Bestimmung des Serumcalciumspiegels erfolgte an einem Flammenphotometer (EFOX 5053, EPPENDORF, Hamburg). Die einzelnen Serumproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut, mit dem Vortexer homogenisiert und anschließend unverdünnt gemessen. Dabei wurde die Probe mit einer 1%igen Lithiumchloridlösung (Art. Nr. 0030 358.007, EPPENDORF, Hamburg) mit Hilfe eines Dual Diluters 1:20 verdünnt und mit Acetylen verbrannt. Die Intensität der so entstandenen Flamme war direkt proportional zum Calciumgehalt der Probe. Im selben Messschritt wurde auch der Natrium und Kaliumgehalt der Probe bestimmt.

3.6.1.2 Phosphat

Der Phosphatgehalt im Serum wurde mittels Photometer (SPEKTRALPHOTOMETER GENESIS 10 UV, THERMO SPECTRONIC, USA) bestimmt. Dabei wurden zunächst 100µl der Probe mit 2 ml Trichloressigsäure (TCA) für zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen pro 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. Dazu wurde 1 ml der zentrifugierten Probenaufbereitung zugegeben und mit dem Vortexer homogenisiert. Anschließend wurden die Proben für 10 Minuten inkubiert. Zunächst wurde dann der Blindwert eingestellt und dann die Proben bei 366nm in Messküvetten (Plastibrand® Einmalküvetten 2,5 ml makro PS, Art. Nr. 759005, BRAND, Wertheim) gemessen. Die folgende Formel errechnete den Phosphatgehalt der Probe in mmol/l, wobei der Wert 10,5 einen empirischen Faktor und der Wert 0,34 die Standardkonzentration darstellt.

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

3.6.1.3 Magnesium

Prinzip

Die verschiedenen Elemente weisen im elektromagnetischen Feld typische Absorptionslinien auf. In der Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) wird der ultraviolette oder sichtbare Bereich verwendet. Durch die Flamme (Ethan/Luftgemisch oder Ethan / Lachgas) werden die Atome in einzelne anregbare Atome überführt, in welche die zu analysierende Lösung gesprüht wird. Hinter der Flamme wird gemessen, wie viel des eingestrahnten Lichts einer bestimmten Wellenlänge durch die zu messenden 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 mmol/l), Art. Nr.: 1.19788, MERCK, Darmstadt
- Programm : Winlab 32 for AA

Bestimmung

Die Serumproben wurden mit der hundertfachen Menge Reinstwasser verdünnt und in 10 ml- PP-Rundbodenröhrchen (10 ml, SARSTEDT AG& Co. KG, Nümbrecht) aliquotiert. In das Programm wurden die Einwaagen der einzelnen Proben und die Verdünnung eingegeben. Anschließend wurde der Magnesiumgehalt im Serum in mmol/l errechnet.

3.7.1.4 1,25 Dihydroxvitamin D₃

Die Bestimmung des 1,25 (OH)₂ D₃ Gehaltes im Serum wurde von der Firma HERBONIS (Basel, Schweiz) durchgeführt. Das Prinzip basiert auf einer kompetitiven Enzym-Immuno-Assay-Technik. Ein monoklonaler Detektionsantikörper bindet dabei nach Vorinkubation das 1,25(OH)₂D₃ im Serum. Durch Bindung eines weiteren Peroxidase-markierten Antikörpers entsteht eine chromogene Verbindung, die photometrisch gemessen werden kann.

3.7.2 Urin

3.7.2.1 Calcium, Kalium und Natrium

Die Bestimmung des Calciumgehaltes in Urin erfolgte ebenfalls am Flammenphotometer (EFOX 5053, EPPENDORF, Hamburg). Dabei wurde der Urin zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut. Während des Rührens auf dem Magnetrührer wurden anschließend 2ml der Probe herauspipettiert und in einen 10ml Rundbodenröhrchen (10 ml, SARSTEDT AG& Co. KG, Nümbrecht) mit der gleichen Menge 6 molarer Salzsäure (HCl) angesäuert, um den durch das Einfrieren entstandenen Niederschlag in Lösung zu bringen. Die Parameter Kalium und Natrium konnten bei derselben Messung mit bestimmt werden. Das Prinzip ist analog zur Bestimmung im Serum.

3.7.2.2 Phosphat

Zur Bestimmung des Phosphatgehaltes im Urin wurde der für die Calciumbestimmung angesäuerte Urin verwendet. Der Phosphatgehalt wurde mittels Spektralphotometer (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic; USA) bestimmt. Dabei wurden jeweils 50µl der Probe mit 1 ml Reinstwasser und 2 ml einer 1:1 Mischung aus Ammonium-Vanadat und Ammonium-Molybdat-Lösung in ein Rundbodenröhrchen pipettiert und mit dem Vortexer homogenisiert. Die dabei entstandene Lösung wurde für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Messung erfolgte analog zur Messung im Serum. Der Phosphatgehalt der Probe ergab sich aus folgender Formel:

$$\text{gP/kg} = \frac{\text{MesswertProbe} \cdot \text{konz.Std.}(0,5) \cdot \text{Verdünnung}}{\text{MesswertStandard} \cdot \text{Einwaage}}$$

3.7.2.3 Kreatinin

Die Kreatininbestimmung im Urin basiert auf einem modifizierten Verfahren nach JAFFE aus dem Jahre 1886. Dabei reagiert alkalische Pikrinsäure mit Kreatinin unter Bildung eines gelben Farbkomplexes, dessen optische Dichte direkt proportional zur Kreatininkonzentration in der Probe ist. Somit kann diese dann photometrisch gemessen werden.

Geräte und Reagenzien

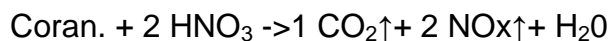
- 3 Mikrotiterplatten mit je 96 Kavitäten , GREINER BIO-ONE GmbH, Frickenhausen
- Creatinin Assay KIT, Microvue, QUIDEL Corporation, San Diego, USA bestehend aus 3 Creatinin-Standards mit 5, 20 und 40 mmol/l Urin-Puffer-Matrix, 1 Creatinin Low Control sowie 1 Creatinin High Control, Farbreagenz: 14 ml 0,14% Pikrinsäure + 2 ml NaOH
- Thermomixer Eppendorf MTP, Firma EPPENDORF, Hamburg
- Assay Reader Sunrise Remote, TECAN, Crailsheim

Durchführung

Zunächst wurde auf die erste Mikrotiterplatte 190µl Reinstwasser und 10µl Urinprobe aufgetragen. Dann wurde mit Hilfe zweier weiterer Platten eine Verdünnungsreihe erstellt, so dass schließlich in der dritten Platte eine Verdünnung von 1:40 vorlag. Dazu wurde anschließend die 0,14%ige Pikrinsäure gegeben, und nach einer 30-minütigen Inkubationszeit im Thermomixer erfolgte die photometrische Messung bei 490nm mit einem ELISA Plattenleser.

3.7.3 Milch

Die Milchproben wurden zunächst in einem Kühlschrank schonend aufgetaut und dann auf Raumtemperatur erwärmt. Nun wurde ein Mikrowellenaufschluss (Mikrowelle mls 1200 mega mit dazugehörigem Steuergerät TERMINAL 320) zur weiteren Analyse angefertigt. Das Prinzip hierbei ist, dass durch Kochen in konzentrierter Salpetersäure (HNO₃) bei erhöhter Temperatur die Probe durch Druck aufgeschlossen und in Lösung gebracht wird. Dabei läuft folgende Reaktion ab:



Dazu wurde die Probe mit einem Homogenisator (Silent Crusher M, Fa Heidolph, Kelheim) zunächst homogenisiert und dann rasch ein Gramm in ein Quarzröhrchen (50 ml Quarzglaseinsatz (EMLS ©, PFA-C-35/QS-50 Einsatz), MLS GmbH, Leutkirch im Allgäu) eingewogen. Dazu wurden fünf Milliliter HNO₃ gegeben und die Quarzröhrchen in Teflonhülsen, die zuvor mit fünf Millilitern Reinstwasser und einem Milliliter Wasserstoffperoxid (H₂O₂) gefüllt worden waren, gesetzt. Danach wurden die Druckkammern verschraubt und in das Mikrowellenrondell eingesetzt, wobei eine Kammer mit einem Temperatursensor versehen war. Anschließend wurden die Proben etwa 60 Minuten gekocht und für weitere 20 Minuten abgekühlt. Dann konnten die Proben entnommen werden. Die so entstandene klare Lösung wurde in 12 Milliliter Röhrchen umgefüllt und mit Reinstwasser bis zur 10 ml Markierung aufgefüllt.

3.7.3.1 Calcium, Natrium und Kalium

Der Mikrowellenaufschluss konnte direkt im Photometer gemessen werden. Das Prinzip ist analog zur Messung in Serum und Urin.

3.7.3.2 Phosphat

Auch für die Phosphatmessung konnte der Mikrowellenaufschluss direkt verwendet werden. Das Prinzip hierbei ist analog zur Messung im Urin.

3.7.3.3 Magnesium

Für die Messung des Magnesiumgehaltes im Mikrowellenaufschluss der Milch wurde die Probe 1:1000 verdünnt und dann in der AAS gemessen. Das Prinzip ist analog zur Messung im Serum.

3.7.4 Futteranalyse

3.7.4.1 Trockensubstanz

Zur Ermittlung der Trockensubstanz wurden etwa 100 Gramm Futters in tarierte Aluschalen eingewogen und bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank (Heraeus Funktion Kine KENDRO, Langenselbold) bei 103 Grad getrocknet. Anschließend wurden die Proben im Exsikkator (VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien) abgekühlt und dann zurückgewogen. Die Trockensubstanz ergibt sich aus dem nichtflüchtigen Anteil in Prozent der ursprünglichen Substanz.

3.7.4.2 Weender-Analyse des Futters

Die Rohnährstoffe Rohprotein (Rp), Rohfett (Rfe), Rohfaser (Rfa) und Rohasche (Ra) wurden mittels Weender-Analyse bestimmt. Dazu wurde das aufgetaute Futter zunächst fein gemahlen (Grindomix, GM 200, Fa RETSCH, Haan).

3.7.4.3 Rohfaserbestimmung

Geräte

- Foss Fibertec hot extractor 2010, FOSS, Hamburg
- Fibertec cold extractor 1021, FOSS, Hamburg
- Trockenschrank Heraeus Funktion Kine, KENDRO, Langenselbold
- Muffelofen Controller P320 30-3000°C, Nabertherm Lilienthal
- Exsikkator aus Glas (VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien, Österreich)

Durchführung

Zur Bestimmung der Rohfaser konnten die getrockneten Futterproben aus der Trockensubstanzbestimmung verwendet werden. Zunächst wurde etwa 1 Gramm Futter in Fritten eingewogen und etwa 0,2 Gramm Celite als Filtrationshilfsmittel dazu eingewogen (beides jeweils auf 0,1 mg genau). Anschließend wurden die Proben im Fibertec Hot Extractor mit Schwefelsäure (H_2SO_4 , 1,25 %ig) und Kalilauge (KOH, 1,25 %ig) zwei Mal gekocht. Wenn es dabei zu einem Schäumen der Proben kam, wurden 1 bis 2 Tropfen Octanol dazugegeben. Nach jedem der beiden Kochvorgänge wurde drei Mal mit Reinstwasser gespült. Danach wurden die Glasfiltertiegel bei 103 Grad etwa 1 Stunde im Trockenschrank getrocknet und anschließend etwa 30 Minuten in Exsikkator abgekühlt. Anschließend wurden die Proben auf der Analysenwaage gewogen und dann im Muffelofen bei 520° C verascht. Die Rohfasermenge im Futter ergab sich nun aus der Differenz der Glasfiltertiegel mit der Futtereinwaage als Trockensubstanz und dem Gewicht des Glasfiltertiegels nach der Veraschung abzüglich der Celiteeinwaage.

3.7.4.4 Rohaschebestimmung

Zur Bestimmung der Rohasche wurde die Futterprobe (ursprüngliche Substanz) zunächst in Porzellantiegel eingewogen und anschließend im Muffelofen bei 550 °C etwa 36 Stunden verascht. Die so entstandene Rohasche wurde dann gewogen und in Prozent der ursprünglichen Substanz angegeben.

3.7.4.5 Rohproteinbestimmung

Der Rohproteingehalt der Futterproben wurde mit dem Kjeldahl-Verfahren bestimmt. Dabei wird der gesamte Stickstoffgehalt der Probe ermittelt und dann der Proteingehalt in Prozent mit Hilfe des Umrechnungsfaktors ($N \times 6,25$) berechnet.

Geräte und Materialien

- Foss Kjeltac 2400, Dispenser 0-25 ml, FOSS, Hamburg
- Schwefelsäure 98%ig, Art. Nr. 100784, MERCK, Darmstadt
- Natronlauge 21%ig, Art. Nr. 105590, MERCK, Darmstadt
- Salzsäure 0,2n, Art. Nr. 113134, MERCK, Darmstadt
- Borsäure 1%ig, Art. Nr. 100160, MERCK, Darmstadt
- Kjeltabs Cu/3,5 (3,5 g $K_2SO_4 + CuSO_4 \cdot 5 H_2O$), VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien, Österreich

Dabei wurden 1 Gramm der Futterprobe (ursprüngliche Substanz) in ein 250 ml Tube eingewogen. Dazu kommen ein Kjeltab und 10 ml konzentrierter H_2SO_4 mit dem Dispenser. Anschließend wurde die Probe bei 380 Grad im Aufschlussblock gekocht. Dabei wurde der in der Probe befindliche Stickstoff in Ammoniumsulfat überführt. Im anschließenden Destillierprozess wurde der Stickstoff unter Zugabe von Natronlauge als NH_3 in eine Vorlage aus Borsäure überführt. Danach wurde durch Titration mit Salzsäure der NH_4OH -Gehalt der Vorlage ermittelt und damit die Stickstoffmenge der Probe erfasst. Die Umrechnung auf Rohprotein in Prozent erfolgte automatisch und musste anschließend nur noch auf die ursprüngliche Substanz umgerechnet werden.

3.7.4.6 Rohfettbestimmung

Geräte und Materialien

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

Durchführung

Zur Bestimmung des Rohfettgehaltes konnten die Proben aus der Trockensubstanzbestimmung verwendet werden. Dazu wurde 1 Gramm der Probe mittels eines Hülsenträgers direkt in die Filterhülsen eingewogen. In den unteren Behälter wurden jeweils drei Siedesteinchen gefüllt und dann der gesamte Behälter gewogen. Nun kamen die Probengefäße in den Fettextraktor, und die Extraktionshülsen wurden mit 80 ml Petrolether gefüllt. Im Programm 1 wurden die Proben dann bei 135°C extrahiert. Anschließend wurden die Probengefäße bei 103 Grad für 60 Minuten im Trockenschrank getrocknet und danach in Exsikkator abgekühlt. Das in der ursprünglichen Substanz enthaltene Rohfett konnte nun durch die Gewichts Differenz ermittelt werden.

3.7.4.7 Calcium-, Magnesium und Phosphatgehalt im Futter

Um den Gehalt dieser Mineralstoffe im Futter zu messen, wurden die getrockneten und gemahlten Futterproben zunächst mit einem Mikrowellenaufschluss homogenisiert. Das Prinzip hierbei ist analog zur Untersuchung der Milch.

Dieser Mikrowellenaufschluss konnte dann, ebenfalls analog zur Milch, mit denselben Geräten gemessen werden.

3.8 Statistische Auswertung

Die Blut-, Urin-, und Michproben wurden in 2 Versuchen genommen. Aus diesen Proben wurden im Labor die Rohdaten ermittelt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes Sigmastat 3.0.

Um signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchstagen zu ermitteln wurden p-Werte bestimmt. Dabei steht p für die Irrtumswahrscheinlichkeit. Wenn p kleiner 0,05 ist liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5% und der Unterschied ist statistisch signifikant. P-Werte, die kleiner 0,01 sind bezeichnet man als hoch signifikant.

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte mit Standardabweichung ($MW \pm SA$) angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Versuch 1

4.1.1 Parameter im Serum

4.1.1.1 Calcium im Serum

In Versuch 1 wurde den 12 Versuchstieren über zehn Tage täglich 10 Gramm eines Extrakts aus *Solanum glaucophyllum* verabreicht, das 2,5µg glycosidisch gebundenes 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro Gramm enthielt. Damit erhielt jedes Tier täglich eine Dosis von 25µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃. Drei Tage vor der ersten Verabreichung bis 30 Tage nach der ersten Verabreichung wurden Blut- Urin- und Milchproben genommen. Der Referenzbereich für Calcium im Serum adulter Rinder liegt zwischen 2,3 und 2,8 mmol/l (Kraft & Dürr, 2005). Tabelle 4.1 zeigt die Serumcalciumwerte (Gesamtcalcium) der einzelnen Kühe in mmol/l sowie die Mittelwerte (MW) für jeden Blutentnahmetag, die jeweilige Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) über einen Zeitraum von 3 Tagen vor der ersten Verabreichung bis zu 30 Tage nach der ersten Verabreichung. Der Serumcalciumgehalt steigt während der gesamten Verabreichung an und erreicht seinen Höhepunkt mit durchschnittlich 2,92 mmol/l am Tag der letzten Verabreichung (Tag 9). Danach ist ein Abfall des Calciumspiegels auf Werte deutlich unter dem Ausgangsniveau zu beobachten. Erst 21 Tage nach der letzten Verabreichung steigt der durchschnittliche Calciumgehalt des Serums wieder auf das Ausgangsniveau an. Die angegebenen p-Werte zeigen die statistische Signifikanz. Somit ergibt sich ein hoch signifikanter ($p < 0,01$) Unterschied gegenüber Tag -3 an den Tagen 2, 5, 9, 12, 16 und 19. An Tag 26 ist ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zu Tag -3 zu beobachten. An den Tagen 0, 23 und 30 ist kein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber Tag -3 zu beobachten.

Tabelle 4.1: Versuch 1, Gesamtcalcium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	2,30	2,32	2,62	2,75	2,92	2,67	2,04	1,63	2,23	2,14	2,12
397	2,45	2,43	2,72	2,84	2,68	2,67	1,99	2,22	2,40	2,26	2,45
420	2,50	2,52	2,83	2,80	2,84	2,61	2,14	1,81	2,21	2,24	2,31
421	2,27	2,47	2,86	2,80	3,00	2,77	1,92	1,84	2,12	2,15	2,31
468	2,41	2,29	2,65	2,76	3,01	2,74	2,43	2,22	2,35	2,42	2,42
491	2,43	2,51	2,68	2,83	2,92	2,35	2,05	2,36	2,45	2,50	2,54
498	2,19	2,12	2,47	2,46	2,75	2,62	2,01	1,82	2,02	2,07	2,10
499	2,32	2,55	2,83	2,66	3,22	2,82	2,29	2,17	2,39	2,39	2,45
659	2,44	2,40	2,75	3,00	3,06	2,83	1,94	2,05	2,40	2,28	2,59
736	2,46	2,39	2,67	2,58	2,80	2,78	1,90	1,89	2,16	2,20	1,62
785	2,42	2,39	2,73	3,02	3,03	2,91	2,06	2,20	2,38	2,30	2,52
793	2,30	2,50	2,65	2,78	2,89	2,82	1,80	2,04	2,25	2,24	2,20
MW	2,37	2,40	2,70	2,76	2,92	2,71	2,05	2,02	2,28	2,27	2,30
SA	0,09	0,13	0,11	0,16	0,15	0,15	0,17	0,22	0,13	0,12	0,30
P		0,46	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,061	0,025	0,23

4.1.1.2 Phosphat im Serum

Tabelle 4.2 zeigt die SerumPhosphatwerte in mmol/l für jedes einzelne Tier, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) drei Tage vor bis 30 Tage nach der ersten Verabreichung. Der Referenzbereich für Phosphat liegt laut (Kraft & Dürr, 2005) bei 1,6 bis 2,3 mmol/l. Auch hier ist ein deutlicher Anstieg des SerumPhosphatspiegels bis zum letzten Verabreichungstag (Tag 9) zu beobachten. Danach sinkt der Spiegel auf Werte deutlich unter dem Ausgangsniveau. Er erreicht seinen Tiefsten Punkt an Tag 19 mit durchschnittlich 1,28 mmol/l. Dieser Wert liegt auch deutlich unter dem von (Kraft & Dürr, 2005) angegebenen Referenzbereich von 1,6 bis 2,3 mmol/l. Danach ist ein

Anstieg der Werte zu beobachten, bis sie an Tag 30 ihr Ausgangsniveau erreichen. Die statistische Auswertung zeigt gegenüber Tag -3 hoch signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede an Tag 2, 5, 9, 12 und 19. An den übrigen Tagen ist kein statistisch signifikanter Unterschied zu ermitteln.

Tabelle 4.2: Versuch 1, Phosphat im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	1,71	1,68	2,18	2,56	2,96	2,96	1,92	1,40	1,67	1,70	1,14
397	1,91	1,78	2,17	3,10	3,27	3,03	1,63	1,46	1,56	1,58	1,70
420	2,03	2,02	2,52	3,25	3,25	2,93	1,75	1,35	1,55	1,66	1,68
421	1,94	1,69	2,71	3,17	3,49	3,22	1,84	1,13	1,21	1,39	1,98
468	1,65	1,56	2,19	2,50	2,94	2,96	1,61	1,27	1,76	1,49	1,50
491	1,69	1,13	1,92	2,47	2,40	2,46	1,28	1,17	1,66	1,61	1,73
498	2,45	2,30	3,05	3,52	3,08	3,29	2,30	1,76	2,02	1,68	2,26
499	2,04	2,44	2,77	3,21	2,88	2,98	2,09	1,46	2,29	2,18	2,11
659	1,70	1,57	2,56	2,96	2,69	2,94	1,08	1,00	1,95	1,28	1,51
736	1,86	1,84	2,17	2,50	2,86	2,80	1,16	1,04	1,83	1,69	1,59
785	1,31	1,52	1,86	2,60	2,78	2,51	1,20	1,06	1,45	1,66	1,45
793	1,48	1,73	2,35	2,89	2,78	2,81	1,27	1,28	1,83	1,28	1,71
MW	1,82	1,77	2,37	2,89	2,95	2,91	1,59	1,28	1,73	1,60	1,78
SA	0,32	0,35	0,39	0,36	0,31	0,24	0,39	0,22	0,28	0,24	0,27
p		0,75	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,139	<0,001	0,493	0,064	0,583

4.1.1.3 Kalium im Serum

Tabelle 4.3 zeigt den Serumkaliumgehalt von Versuch 1 in mmol/l für jedes einzelne Tier sowie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) an jedem Untersuchungstag. Der Referenzbereich für Kalium im Serum adulter Rinder liegt laut (Kraft/Dürr 2005) bei 3,5-4,5 mmol/l. Die Werte schwanken nur geringfügig, ein stetiger Anstieg oder Abfall der Serumkaliumwerte ist nicht zu beobachten. Ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu den Ausgangswerten ist nur an Tag 23 zu ermitteln.

Tabelle 4.3: Versuch 1, Kalium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	3,61	4,18	4,40	5,20	4,67	3,70	4,43	3,62	4,57	4,11	3,81
397	4,26	4,55	4,40	4,27	3,92	3,61	4,08	4,63	4,68	4,57	4,73
420	4,47	4,63	4,41	3,96	4,44	4,47	4,30	4,63	4,45	4,10	4,66
421	4,17	3,95	5,09	4,44	4,66	4,97	4,32	4,67	3,89	4,70	5,06
468	4,06	3,86	4,31	4,77	4,35	4,04	4,27	5,18	4,64	3,75	4,38
491	3,90	4,18	4,17	4,37	4,23	3,43	4,45	4,13	3,91	3,91	4,38
498	3,74	4,11	4,04	3,76	4,05	3,87	4,06	4,42	4,61	3,93	5,28
499	4,60	4,69	4,42	4,22	4,52	4,24	4,66	5,02	4,21	4,66	4,83
659	3,96	4,46	4,23	4,45	4,23	4,94	4,69	4,27	4,41	4,71	4,62
736	5,12	4,98	4,53	4,24	5,06	5,02	4,62	5,04	4,69	4,28	4,28
785	3,97	4,33	3,96	3,94	4,13	4,60	4,15	4,14	4,66	4,98	5,11
793	3,84	5,04	5,03	4,28	3,78	4,21	3,60	4,36	4,68	4,60	3,79
MW	4,14	4,41	4,38	4,32	4,33	4,26	4,30	4,51	4,45	4,36	4,58
SA	0,41	0,37	0,36	0,38	0,35	0,54	0,30	0,46	0,29	0,39	0,46
p		0,111	0,078	0,277	0,235	0,566	0,297	0,050	0,049	0,207	0,360

4.1.1.4 Natrium im Serum

Tabelle 4.4 zeigt den Serumnatriumgehalt von Versuch 1 in mmol/l für jedes einzelne Tier sowie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) für jeden Untersuchungstag. Der Referenzbereich für Natrium im Serum liegt laut (Kraft/Dürr 2005) bei 137-157 mmol/l. Es ist kein Anstieg oder Abfall der Werte zu beobachten. Die Mittelwerte bleiben zu jedem Zeitpunkt im Referenzbereich. An Tag 5 und 12 besteht ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) gegenüber Tag -3.

Tabelle 4.4: Versuch 1, Natrium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	137,3	138,8	139,6	138,2	136,4	137,3	136,8	138,4	140,8	138,6	138,1
397	138,2	138,0	141,4	136,9	137,0	137,7	139,7	139,3	138,5	139,4	139,5
420	138,5	140,5	138,5	137,2	137,9	137,5	139,7	139,7	139,2	138,4	137,7
421	138,4	144,3	140,9	140,7	139,8	140,8	138,1	137,4	140,7	142,3	140,5
468	138,4	140,1	139,3	138,7	140,8	137,2	140,5	140,0	139,5	142,7	139,2
491	140,4	141,3	138,5	133,3	137,4	133,4	138,6	139,5	140,3	140,2	139,7
498	142,8	139,2	140,7	135,7	138,7	139,4	141,0	140,3	142,3	141,8	140,8
499	139,8	139,8	140,2	135,1	141,3	138,3	141,0	141,8	141,2	139,5	140,7
659	138,4	138,7	140,0	136,7	136,0	134,5	139,1	138,2	138,7	140,4	140,1
736	142,7	139,6	137,7	133,0	138,3	136,5	136,4	136,5	137,9	137,9	137,7
785	139,5	140,0	139,7	137,9	138,3	137,1	137,1	139,5	140,1	142,0	140,9
793	135,9	141,0	137,0	139,0	138,6	138,9	140,1	138,3	142,4	140,5	140,5
MW	139,2	140,1	139,4	136,8	138,3	137,4	139,0	139,1	140,1	140,3	139,6
SA	2,12	1,62	1,31	2,79	1,65	2,02	1,63	1,42	1,45	1,60	1,21
p		0,235	0,706	0,015	0,288	0,039	0,808	0,871	0,202	0,149	0,538

4.1.1.5 Magnesium im Serum

Tabelle 4.5 zeigt den Serummagnesiumgehalt in mmol/l für jedes einzelne Tier, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung für jeden Untersuchungstag. Der Referenzbereich für Magnesium im Serum adulter Rinder liegt laut (Kraft/Dürr 2005) bei 0,8-1,3 mmol/l. Auch hier sind keine deutliche Schwankungen der Werte zu beobachten. Die Mittelwerte bleiben zu jedem Zeitpunkt im Referenzbereich, die Standardabweichung ist gering. An Tag 16 ergibt sich gegenüber Tag -3 ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) und an Tag 2 ein statistisch hoch signifikanter ($p < 0,01$) Unterschied. An allen anderen Untersuchungstagen besteht kein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Ausgangswerten.

Tabelle 4.5: Versuch 1, Magnesium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	0,8	1,1
397	0,9	0,9	0,7	0,8	0,7	0,8	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0
420	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,1	1,0	0,8	0,8	0,8
421	1,0	0,8	0,7	1,1	0,9	1,0	1,1	1,0	0,9	0,8	0,9
468	1,1	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	1,1	1,1	1,0	0,9	0,9
491	1,0	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	0,9	0,9	1,0
498	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0
499	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	1,2	1,1	1,0	1,0	0,9
659	1,2	1,0	0,9	1,0	1,0	0,8	1,1	0,8	1,0	1,0	1,0
736	0,9	0,9	0,8	0,9	0,8	0,7	1,0	0,9	1,0	0,8	0,8
785	0,9	0,9	0,7	0,8	0,7	0,9	1,2	0,9	1,0	0,9	1,0
793	0,8	0,9	0,7	0,9	0,9	0,8	1,1	1,1	1,0	1,0	0,9
MW	1,0	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	1,1	1,0	0,9	0,9	0,9
SA	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
P		0,325	0,003	0,193	0,069	0,105	0,030	0,772	1,000	0,259	0,931

4.1.1.6 1,25 Dihydroxyvitamin D₃

Tabelle 4.6. zeigt die 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Werte im Serum von Versuch 1 in pg/ml. Zusätzlich angegeben sind Mittelwerte (MW) und Standardabweichung für jeden Untersuchungstag. Der Referenzbereich liegt laut (Horst & Littledike, 1982) für erwachsene Rinder bei 14-67 pg/ml. Aus Kostengründen wurden zweimal die Seren von jeweils 2 Kühen gepoolt, und es konnten nur die Werte bis zum Tag 5 nach der ersten Verabreichung bestimmt werden.

Tabelle 4.6: Versuch 1, 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ im Serum in pg/ml, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2 und 5 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5
323/397	65,60	57,20	71,30	123,10
420	33,40	48,20	91,30	120,30
421	18,00	21,90	65,90	62,70
468	37,80	32,10	78,40	114,20
491	49,90	52,90	103,40	99,20
498	29,30	27,70	77,20	79,90
499	45,60	35,10	73,40	108,10
659	34,70	29,70	58,90	87,90
736	17,10	22,70	66,30	42,60
785/793	29,80	42,10	76,40	84,20
MW	36,12	36,96	76,25	92,22
SA	14,67	12,53	12,95	26,02

4.1.1.1.7 Ketonkörper

Tabelle 4.7 zeigt die Ketonkörper im Vollblut von Versuch 1 über einen Zeitraum von 33 Tagen. Als physiologisch gelten laut Iwersen (2009) Werte bis zu $1,4\mu\text{mol/l}$. Damit bleiben alle gemessenen Werte im Referenzbereich. Es ist kein stetiger Anstieg oder Abfall zu beobachten. An Tag 19 ergibt sich ein statistisch signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied gegenüber Tag -3, an allen anderen Tagen ist kein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 feststellbar.

Tabelle 4.7: Versuch 1, Ketonkörper im Vollblut in $\mu\text{mol/l}$, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	0,4	0,4	0,7	0,4	0,5	0,9	0,8	1,6	0,8	1,0	1,4
397	0,7	0,4	0,9	0,6	1,1	1,2	0,7	0,6	0,7	1,0	1,1
420	0,6	0,7	0,6	0,3	0,4	0,5	0,4	0,8	0,3	0,7	0,6
421	0,5	0,6	0,8	0,7	1,3	0,7	0,7	1,4	0,9	0,8	1,5
468	0,5	0,3	1,0	0,3	0,5	0,7	0,2	0,4	0,3	0,6	0,5
491	0,8	0,6	0,7	0,2	0,6	0,8	0,4	0,7	0,6	1,1	0,6
498	0,7	0,4	0,9	0,5	0,3	0,6	0,4	0,7	0,6	0,5	0,6
499	0,8	0,6	0,8	0,9	0,6	0,5	0,6	0,8	0,8	0,8	0,7
659	0,9	0,6	0,8	0,6	0,4	0,4	0,6	0,9	0,6	0,8	0,7
736	0,5	0,6	0,7	0,7	0,4	0,4	0,8	1,1	0,6	0,5	0,8
785	0,7	0,6	1,3	1,2	0,7	0,6	0,7	1,3	0,6	1,2	1,0
793	1,1	0,8	0,7	0,8	1,4	0,9	1,3	0,9	0,4	0,8	1,1
MW	0,68	0,55	0,83	0,60	0,68	0,68	0,63	0,93	0,60	0,82	0,88
SA	0,20	0,14	0,19	0,29	0,37	0,24	0,28	0,35	0,19	0,22	0,33
P		0,074	0,086	0,416	0,419	1,000	0,620	0,044	0,307	0,139	0,088

4.1.2 Klinische Erscheinungen

Tabelle 4.8 zeigt die während Versuch 1 aufgetretenen klinischen Erscheinungen der Versuchstiere. Es wird jeweils das erkrankte Organsystem benannt. Demnach erkrankten während Versuch 1 drei Tiere an einer Klauenerkrankung.

Tabelle 4.8: Versuch 1, Klinische Erscheinungen, an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	Klaue		Klaue		Klaue				Klaue		
397											
420											
421			Klaue	Klaue	Klaue	Klaue	Klaue		Klaue		Klaue
468											
491											
498											
499											
659											
736			Klaue								
785											
793											

4.1.3 Parameter im Urin

4.1.3.1 Calcium im Urin

Tabelle 4.9 zeigt den Calcium/Kreatinin-Quotienten (Gesamtcalcium) im Urin von jedem Tier, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) für jeden Tag über einen Versuchszeitraum von 33 Tagen. Auch hier ist, analog zum Serum, ein Anstieg der Werte bis zum Tag der letzten Verabreichung (Tag 9) zu beobachten. Danach sinkt die durchschnittliche Calciumexkretion über den Urin auf Werte deutlich unter den Ausgangswerten von Tag -3 ab. Die statistische Auswertung zeigt statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte gegenüber Tag - 3 an Tag 0. Hoch signifikant ($p < 0,01$) höhere Werte sind an den Tagen 2, 5, 9, und 12 festzustellen. An den Untersuchungstagen 16 und 19 sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Werte gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 feststellbar.

Tabelle 4.9: Versuch 1, Calcium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	0,05	0,10	0,30	1,13	2,17	1,36	0,03	0,02	0,11	0,02	0,02
397	0,02	0,02	0,06	0,10	0,05	0,03	0,02	0,01	0,09	0,03	0,03
420	0,02	0,27	1,05	1,57	1,38	0,67	0,01	0,01	0,06	0,02	0,05
421	0,02	0,04	1,28	1,58	0,34	0,43	0,01	0,02	0,02	0,01	0,18
468	0,03	0,04	0,38	0,46	1,39	0,94	0,02	0,02	0,01	0,01	0,06
491	0,04	0,21	0,61	0,16	0,42	0,08	0,04	0,03	0,09	0,13	0,04
498	0,03	0,13	0,80	0,77	0,98	0,19	0,01	0,04	0,03	0,03	0,01
499	0,02	0,21	0,86	1,17	0,49	0,89	0,04	0,02	0,16	0,03	0,06
659	1,44	0,63	2,38	3,57	3,14	1,43	0,02	0,02	1,19	0,05	0,88
736	0,04	0,29	0,72	1,00	1,24	1,88	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02
785	0,02	0,15	0,53	1,45	1,60	1,46	0,01	0,01	0,04	0,06	0,02
793	0,10	0,41	1,80	1,78	1,62	0,58	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
MW	0,15	0,21	0,90	1,23	1,23	0,83	0,02	0,02	0,15	0,03	0,11
SA	0,41	0,18	0,66	0,92	0,87	0,60	0,01	0,01	0,33	0,03	0,25
P		0,01	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,015	0,021	0,453	0,452	0,977

4.1.3.2 Phosphat im Urin

Tabelle 4.10 zeigt die Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin während einem Versuchszeitraum von 33 Tagen sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) an jedem Untersuchungstag. Auch hier ist ein deutlicher Anstieg der Werte zu beobachten, jedoch kein Abfall der Phosphatexkretion nach dem Ende der Verabreichung. Die statistische Auswertung zeigt hoch signifikant ($p < 0,01$) höhere Werte an den Tagen 5, 9 und 12. An allen übrigen Tagen unterscheiden sich die Werte nicht statistisch signifikant von den Ausgangswerten von Tag -3.

Tabelle 4.10: Versuch 1, Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	0,18	0,17	0,16	0,54	0,5	0,49	0,18	0,15	0,22	0,18	0,17
397	0,14	0,17	0,16	0,40	0,45	0,28	0,14	0,11	0,16	0,14	0,09
420	0,11	0,09	0,14	0,18	0,71	0,34	0,10	0,07	0,10	0,13	0,15
421	0,18	0,09	0,21	0,76	1,25	1,67	0,42	2,91	1,52	0,07	0,14
468	0,19	0,11	0,19	0,34	0,28	0,33	0,13	0,24	0,12	0,11	0,19
491	0,22	0,24	0,27	0,23	0,49	0,63	0,17	0,18	0,17	0,21	0,21
498	0,24	0,26	0,58	1,66	0,65	0,64	0,40	1,38	0,77	0,41	0,45
499	0,09	0,11	0,18	0,54	0,51	1,27	0,16	0,11	0,54	0,26	0,17
659	0,19	0,20	0,21	0,56	0,33	0,3	0,18	0,25	0,17	0,17	0,08
736	0,18	0,19	0,20	0,41	0,2	0,28	0,17	0,25	0,22	0,11	0,15
785	0,12	0,11	0,10	0,46	0,34	0,25	0,13	0,14	0,10	0,14	0,09
793	0,11	0,12	0,12	0,59	0,43	0,56	0,12	0,86	0,65	0,10	0,11
MW	0,16	0,16	0,21	0,56	0,51	0,59	0,19	0,55	0,40	0,17	0,17
SA	0,05	0,06	0,12	0,38	0,27	0,44	0,10	0,84	0,42	0,09	0,10
P		0,734	0,356	<0,001	<0,001	<0,001	0,885	0,273	0,326	0,825	0,453

4.1.3.3 Natrium im Urin

Tabelle 4.11 zeigt den Natrium/Kreatinin-Quotienten im Urin während Versuch 1 sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das jeweilige Ergebnis der statistischen Auswertung (p) an jedem Untersuchungstag. Die Natriumexkretion über den Urin schwankt sehr stark, ein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte ist jedoch nicht festzustellen. Die statistische Auswertung ergab für die Untersuchungstage 5, 23 und 26 statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte gegenüber Tag -3.

Tabelle 4.11: Versuch 1, Natrium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	2,97	0,25	0,20	10,10	0,87	1,21	0,48	1,76	5,24	5,19	6,01
397	0,35	0,09	6,70	2,33	3,78	2,01	7,21	0,10	0,25	3,45	0,92
420	0,41	0,39	0,69	6,58	3,89	0,82	5,06	5,10	13,37	5,44	4,21
421	1,07	7,10	9,11	21,38	6,25	1,21	1,21	0,49	6,37	10,53	0,16
468	0,11	0,96	0,11	1,46	0,21	0,78	6,43	0,11	0,22	1,58	0,01
491	0,25	2,60	0,54	5,70	0,66	8,83	0,24	12,71	4,45	2,95	4,42
498	3,89	0,50	4,15	10,47	15,57	0,74	0,06	2,27	4,66	7,59	1,77
499	17,98	15,39	9,30	10,98	9,88	3,25	3,35	8,34	24,28	17,24	14,40
659	2,88	9,25	8,21	7,72	8,91	1,00	0,74	21,27	5,08	10,64	6,67
736	3,60	3,96	1,15	0,75	4,82	0,44	0,06	3,19	4,00	2,33	1,34
785	0,22	0,27	0,56	0,20	0,85	0,14	0,14	0,05	0,09	0,25	0,46
793	0,05	0,01	0,11	2,08	4,57	1,26	1,49	10,76	15,91	2,66	2,11
MW	2,81	3,40	3,40	6,64	5,02	1,81	2,21	5,51	6,99	5,82	3,54
SA	5,00	4,85	3,84	6,09	4,59	2,35	2,63	6,60	7,30	4,91	4,10
P		0,817	0,470	0,046	0,050	0,665	0,885	0,371	0,046	0,043	0,312

4.1.3.4 Kalium im Urin

Tabelle 4.12 zeigt den Kalium/Kreatinin-Quotienten im Urin während Versuch 1. Mit angegeben sind jeweils der Mittelwert (MW), die Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) an jedem Untersuchungstag. Ein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte ist hier nicht festzustellen. Ein statistisch signifikanter Unterschied der Werte gegenüber Tag – 3 ist an keinem Untersuchungstag zu ermitteln.

Tabelle 4.12: Versuch 1, Kalium /Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30
323	23,10	26,10	19,48	27,00	28,9	26,1	29,06	28,31	26,06	17,91	18,85
397	19,47	25,08	23,19	20,82	18,7	22,4	16,34	24,45	22,46	21,92	23,18
420	12,01	13,55	13,40	13,92	18,7	16,6	12,28	12,54	9,94	12,44	15,36
421	23,50	14,62	22,08	19,96	20,7	14,7	24,71	11,59	11,26	15,31	17,59
468	23,57	19,76	17,43	22,79	17,2	25,3	17,43	24,32	20,22	20,81	19,35
491	31,95	33,36	30,17	28,00	29,8	34,5	10,05	28,34	22,84	25,65	32,38
498	17,23	15,59	21,03	21,50	18,9	15,1	15,03	18,57	14,04	14,21	15,64
499	29,24	31,46	28,60	25,37	22,1	29,2	20,96	22,38	27,98	21,25	24,52
659	21,58	35,35	30,29	35,76	25,5	28,8	42,98	25,71	25,93	24,93	26,21
736	30,31	24,70	19,91	36,97	16,3	33,2	22,95	34,28	30,57	33,31	23,60
785	20,58	17,27	15,80	18,38	16,2	16,4	25,90	16,19	20,46	27,99	17,16
793	17,96	15,76	15,96	25,85	15,2	18,6	18,31	17,97	16,83	15,25	16,09
MW	22,54	22,72	21,45	24,69	20,7	23,4	21,33	22,05	20,71	20,91	20,83
SA	5,80	7,73	5,71	6,73	4,94	7,11	8,85	6,85	6,60	6,27	5,21
P		0,951	0,645	0,411	0,407	0,747	0,696	0,852	0,479	0,516	0,454

4.1.4 Parameter in der Milch

4.1.4.1 Calcium in der Milch

Tabelle 4.13 zeigt den Calciumgehalt (Gesamtcalcium) in der Milch von vier Tieren an vier Tagen während Versuch 1, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) für jeden Untersuchungstag. Es wurden der erste Versuchstag, der letzte Tag, sowie die beiden Tage mit höchstem beziehungsweise niedrigstem Serumcalciumspiegel ausgewählt. Der Referenzbereich für Calcium in reifer Kuhmilch liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 1,13 g/kg, (Töpel, 2004) gibt den Referenzwert mit 1,25 g/kg an. Es ergeben sich zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3.

Tabelle 4.13: Versuch 1, Calciumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 9	Tag 19	Tag 30
323	1,19	1,23	1,23	1,27
420	1,28	1,31	1,27	1,22
421	1,22	1,18	1,10	1,24
736	1,13	1,13	1,07	1,06
MW	1,21	1,21	1,17	1,20
SA	0,07	0,08	0,09	0,09
P		0,884	0,541	0,889

4.1.4.2 Phosphat in der Milch

Tabelle 4.14 zeigt den Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Der Referenzbereich liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,94 g/kg. Auch hier ergeben sich zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede gegenüber dem Ausgangswert von Tag -3.

Tabelle 4.14: Versuch 1, Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 9	Tag 19	Tag 30
323	1,14	1,00	0,98	1,04
420	1,03	0,99	1,02	1,01
421	1,03	1,05	1,01	1,03
736	1,01	1,02	1,03	0,92
MW	1,03	1,02	1,00	1,03
SA	0,11	0,10	0,10	0,09
p		0,291	0,225	0,240

4.1.4.3 Magnesium in der Milch

Tabelle 4.15 zeigt den Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte(MW) Standardabweichung(SA) und statistische Auswertung (p). Der Referenzbereich liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,12 g/kg. Gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 ergeben sich an keinem Untersuchungstag statistisch signifikante Unterschiede.

Tabelle 4.15: Versuch 1, Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 9	Tag 19	Tag 30
323	0,105	0,096	0,108	0,105
420	0,125	0,110	0,118	0,112
421	0,109	0,104	0,104	0,110
736	0,117	0,109	0,115	0,105
MW	0,114	0,105	0,111	0,108
SA	0,09	0,06	0,06	0,04
p		0,142	0,633	0,256

4.1.4.4 Natrium in der Milch

Tabelle 4.16 zeigt den Natriumgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Der Referenzbereich liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,42 g/kg und laut (Töpel, 2004) bei 0,50 g/kg. Auch hier sind gegenüber Tag -3 zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede feststellbar.

Tabelle 4.16: Versuch 1, Natriumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 9	Tag 19	Tag 30
323	0,41	0,43	0,40	0,55
420	0,45	0,43	0,40	0,44
421	0,43	0,54	0,43	0,42
736	0,54	0,52	0,54	0,63
MW	0,46	0,48	0,44	0,51
SA	0,05	0,05	0,06	0,09
p		0,602	0,486	0,392

4.1.4.5 Kalium in der Milch

Tabelle 4.17 zeigt den Kaliumgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) für jeden Untersuchungstag. Der Referenzbereich liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 1,44 g/kg. (Töpel, 2004) gibt den Referenzwert mit 1,5 g/kg an. Ein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Ausgangswerten ist auch hier zu keinem Zeitpunkt zu ermitteln.

Tabelle 4.17: Versuch 1, Kaliumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 9, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 9	Tag 19	Tag 30
323	1,67	1,65	1,72	1,63
420	1,65	1,48	1,63	1,69
421	1,57	1,33	1,37	1,64
736	1,53	1,53	1,66	1,35
MW	1,61	1,50	1,59	1,58
SA	0,06	0,12	0,14	0,15
p		0,197	0,909	0,754

4.1.5 Parameter in Futter

4.1.5.1 Weender-Analyse des Futters

Tabelle 4.18 zeigt die Ergebnisse der Weender-Analyse der beiden verschiedenen Krafftfutterarten, sowie der Total-Mixed-Ration von Tag 0 des ersten Versuchs, Tag 30 des ersten Versuchs und Tag 33 des 2. Versuchs. Es wurden jeweils die Trockensubstanz (TS), sowie die Gehalte an Rohfaser (Rfa), Rohprotein (Rpr), Rohasche (Ra) und Rohfett (Rfe) in Prozent bestimmt.

Tabelle 4.18: Rohnährstoffgehalte der beiden Krafftfutterarten (1 und 2), sowie der Total-Mixed-Ration (TMR) von Tag 0 des ersten Versuch, Tag 30 des ersten Versuchs und Tag 33 des zweiten Versuchs nach Weender-Analyse

Futterart	TS (%)	Rfa (%)	Rpr (%)	Ra (%)	Rfe (%)
Krafftfutter1	89,2	5,1	19,7	3,5	2,1
Krafftfutter2	87,6	5,8	22,3	4,8	5,5
TMR Tag 0	40,8	20,3	14,7	5,5	2,9
TMR Tag 30 (1)	42,7	18,5	15,4	6,3	2,7
TMR Tag 33 (2)	40,4	21,7	14,8	6,8	2,7

4.1.5.2 Mineralstoffgehalte des Futters

Tabelle 4.19 zeigt die Gehalte an Calcium, Phosphat, Natrium und Kalium in g/kg sowie den Gehalt an Magnesium in mg/kg der beiden verschiedenen Krafftfutterarten und der 3 verschiedenen Total-Mixed-Rations, die während der beiden Versuche angeboten wurden.

Tabelle 4.19: Gehalte an Calcium (Ca), Phosphat (P), Natrium (Na), Kalium (K) und Magnesium (Mg) der beiden Krafffutterarten (1 und 2), sowie der Total-Mixed-Ration (TMR) von Tag 0 des ersten Versuch, Tag 30 des ersten Versuchs und Tag 33 des zweiten Versuchs

Futterart	Ca (g/kg)	P (g/kg)	Na (g/kg)	K (g/kg)	Mg (mg/kg)
Krafffutter1	1,5	5,2	0,1	9,5	1680,0
Krafffutter2	6,8	5,6	0,5	10,6	2065,0
TMR Tag 0	5,6	4,6	1,0	15,8	1910,0
TMR Tag 30 (1)	7,5	5,4	2,1	16,0	2255,1
TMR Tag 33 (2)	7,7	5,1	2,4	17,3	2150,0

4.2 Versuch 2

4.2.1 Parameter im Serum

4.2.1.1 Calcium im Serum

Im Versuch 2 wurde den 12 Probanden 10 Tage lang jeden zweiten Tag ein Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* verabreicht, das 2,5µg glycosidisch gebundenes 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro Gramm enthielt und anschließend noch drei Mal, ebenfalls jeden zweiten Tag, eine reduzierte Menge gegeben. Demnach erhielt jede Kuh fünf Mal im Abstand von je zwei Tagen (an Tag 0, 2, 4, 6 und 8) 25 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, ein Mal (Tag 10) 12,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, ein Mal (Tag 12) 7,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ und ein Mal (Tag 14) 2,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃. Blut- Milch- und Urinproben wurden drei Tage vor der ersten Verabreichung bis zu 33 nach der ersten Verabreichung genommen. Tabelle 4.20 zeigt die Serumcalciumwerte (Gesamtcalcium) der Kühe über einen Versuchszeitraum von 36 Tagen, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p). Der Referenzbereich für Calcium im Serum von adulten Rindern wird von (Kraft & Dürr, 2005) mit 2,3 bis 2,8 mmol/l angegeben. Wie in Versuch 1 steigt auch hier der durchschnittliche Serumcalciumgehalt bis zu Tag 9 stetig an, um dann bis Tag 26 auf Werte unter dem Ausgangsniveau abzusinken. Erst 33 Tage nach der ersten Verabreichung erreicht der Calciumspiegel wieder sein Ausgangsniveau. Die statistische Auswertung zeigt signifikante (p<0,05) Unterschiede des Serumcalciumspiegels gegenüber Tag -3 an Tag 2, sowie hoch signifikante (p<0,01) Unterschiede gegenüber den Ausgangswerten an den Tagen 5, 9, 12, 19, 23, 26 und 30. An den Tagen 0, 16 und 33 sind keine statistisch signifikanten Unterschiede gegenüber Tag -3 feststellbar.

Tabelle 4.20: Versuch 2, Gesamtcalcium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	2,34	2,36	2,61	2,80	2,76	2,61	2,13	1,85	1,74	1,69	2,24	2,23
397	2,42	2,41	2,77	2,92	2,75	2,43	2,16	1,75	2,36	2,01	2,22	2,27
420	2,43	2,39	2,63	2,65	2,62	2,73	2,22	1,94	1,99	2,06	1,96	2,29
421	2,41	2,37	2,48	2,76	2,63	2,61	2,34	2,03	2,23	1,83	2,18	2,36
468	2,52	2,55	2,61	2,81	2,47	2,72	2,50	2,21	2,28	1,99	2,41	2,56
491	2,45	2,44	2,60	2,82	2,57	2,58	2,18	2,27	2,09	1,97	2,31	2,35
498	2,06	2,18	2,34	2,49	2,53	2,45	2,15	1,73	1,85	1,81	2,03	2,11
499	2,42	2,51	2,53	2,79	2,73	2,53	2,42	2,24	2,03	2,16	2,26	2,34
659	2,54	2,39	2,58	2,77	2,53	2,68	2,59	1,64	2,15	2,36	2,38	2,43
736	2,29	2,36	2,41	2,68	2,66	2,29	1,89	1,88	2,07	2,10	2,09	2,28
785	2,40	2,45	2,76	2,98	2,69	2,93	2,24	2,13	2,07	2,14	2,14	2,24
793	2,39	2,43	2,15	2,15	2,50	2,49	2,36	2,02	1,97	2,02	2,20	2,27
MW	2,39	2,40	2,54	2,72	2,62	2,58	2,26	1,97	2,07	2,01	2,20	2,31
SA	0,12	0,09	0,17	0,21	0,11	0,17	0,19	0,21	0,18	0,18	0,13	0,11
p		1,000	0,017	<0,001	<0,001	0,003	0,070	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	0,118

4.2.1.2 Phosphat im Serum

Tabelle 4.21 zeigt die Serumphosphatwerte der einzelnen Versuchstiere über einen Versuchszeitraum von 36 Tagen, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p). Laut (Kraft & Dürr, 2005) liegt der Referenzbereich für Phosphat im Serum des Rindes zwischen 1,6 und 2,3 mmol/l. Auch hier steigen die durchschnittlichen Werte bis zu Tag 9 an und fallen dann auf Werte unter dem Ausgangsniveau ab. Bis Tag 30 steigen sie wieder an. Die statistische Auswertung ergab an Tag 16 statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte als an Tag -3 und statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$) höhere Werte an den Tagen 5, 9 und 12.

Außerdem fanden sich statistisch hoch ($<0,01$) signifikant niedrigere Werte an den Tagen 19 und 23.

Tabelle 4.21: Versuch 2, Phosphat im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	1,97	1,92	2,16	3,10	3,60	2,60	2,10	1,34	1,49	1,45	2,35	1,55
397	1,79	1,61	2,61	3,21	3,85	3,49	2,25	1,23	1,72	1,59	2,06	1,66
420	1,69	1,90	2,13	2,95	3,08	3,24	2,52	1,63	1,64	1,96	1,79	1,86
421	1,94	1,70	2,10	2,88	2,99	2,54	2,21	1,46	1,71	1,69	1,51	1,75
468	1,68	1,38	1,61	2,65	3,01	2,57	2,04	1,50	1,43	1,64	1,43	1,47
491	1,72	1,60	2,35	2,58	2,64	2,34	2,01	1,27	1,28	1,45	1,96	1,94
498	2,51	2,08	2,83	3,78	3,84	3,22	2,78	2,00	1,86	1,92	1,91	1,87
499	2,23	1,90	2,26	3,42	3,24	2,53	2,32	2,00	1,49	1,58	1,48	1,77
659	1,79	1,51	2,39	3,34	3,25	2,74	2,15	0,92	1,19	2,33	1,78	1,69
736	1,42	1,70	2,14	3,24	2,68	1,66	1,34	1,35	1,50	1,55	1,62	2,03
785	1,50	1,11	1,84	2,62	2,82	2,74	1,98	1,38	1,16	1,58	1,53	1,14
793	1,86	1,96	1,03	2,08	2,50	2,54	2,51	1,56	1,27	1,55	1,54	1,68
MW	1,84	1,70	2,12	2,99	3,13	2,69	2,19	1,47	1,48	1,69	1,75	1,70
SA	0,30	0,27	0,46	0,45	0,44	0,48	0,35	0,30	0,22	0,26	0,27	0,24
p		0,144	0,096	<0,001	<0,001	<0,001	0,019	0,007	0,003	0,133	0,432	0,215

4.2.1.3 Kalium im Serum

In Tabelle 4.22 sind die Serumkaliumwerte der Versuchstiere über einen Versuchszeitraum von 36 Tagen dargestellt. Es werden an jedem Untersuchungstag zusätzlich Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) angegeben. Der Referenzbereich für Kalium im Serum des adulten Rindes wird von (Kraft & Dürr, 2005) mit 3,5-4,5 mmol/l angegeben. Damit bleiben die Serumkaliumwerte von Versuch 2 zu jedem Zeitpunkt innerhalb des

Referenzbereichs. Jedoch sind gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 an Tag 23 statistisch signifikant ($p < 0,05$) und an den Tagen 19 und 26 hoch signifikant ($p < 0,01$) niedrigere Werte festzustellen.

Tabelle 4.22: Versuch 2, Kalium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	5,08	4,38	4,69	4,50	3,90	4,00	3,63	3,92	4,09	3,23	4,14	4,20
397	4,63	3,94	4,65	4,84	3,95	4,05	4,12	3,14	4,20	4,19	4,33	4,22
420	4,74	4,47	4,22	4,65	3,83	4,81	4,21	4,08	4,61	4,46	3,96	4,50
421	4,70	4,61	4,76	4,73	4,90	4,77	4,78	4,43	4,48	3,87	4,39	4,34
468	4,30	4,49	4,21	4,70	3,76	4,37	4,26	3,33	3,86	3,43	4,50	3,99
491	3,92	4,28	4,00	3,97	3,42	3,83	3,13	3,72	3,52	3,75	4,20	4,20
498	4,30	4,81	5,01	5,29	5,55	4,80	4,66	3,59	4,09	4,07	4,58	4,43
499	4,44	5,33	4,58	4,42	4,51	4,03	4,41	4,20	3,99	3,32	4,23	4,47
659	4,60	4,71	4,02	4,42	4,50	4,05	4,47	3,95	4,19	3,92	4,02	4,61
736	4,08	4,29	4,87	4,20	3,99	4,34	4,01	4,81	4,23	4,63	4,10	5,39
785	4,34	4,73	4,89	4,24	3,48	4,27	3,75	3,72	4,15	3,88	4,37	4,67
793	4,15	4,53	3,41	3,59	3,69	4,17	4,22	3,81	4,21	3,78	4,06	4,30
MW	4,44	4,54	4,44	4,46	4,12	4,29	4,13	3,89	4,13	3,96	4,24	4,44
SA	0,32	0,34	0,47	0,43	0,63	0,34	0,45	0,45	0,28	0,40	0,24	0,35
p		0,439	0,988	0,888	0,135	0,283	0,077	0,003	0,022	0,001	0,081	0,981

4.2.1.4 Natrium im Serum

In Tabelle 4.23 sind die Serumnatriumwerte der Versuchstiere während Versuch 2 dargestellt. Es werden zusätzlich Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) angegeben. Der Referenzbereich liegt laut (Kraft & Dürr, 2005) zwischen 137-157mmol/l. Damit bleiben die Mittelwerte zwar an jedem Untersuchungstag im Referenzbereich, statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere

Werte sind jedoch an Tag 2 bzw. statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$) niedrigere Werte an den Tagen 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26 und 30 feststellbar. An den Tagen 0 und 33 ist kein statistisch signifikanter Unterschied zu den Ausgangswerten von Tag -3 zu ermitteln.

Tabelle 4.23: Versuch 2, Natrium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	138,3	139,3	136,9	150,1	138,7	135,9	125,8	136,9	136,4	120,7	137,9	139,2
397	140,7	139,7	141,1	147,2	136,6	138,5	139,5	132,6	140,4	133,9	136,2	138,5
420	139,6	141,0	138,4	148,0	132,0	140,3	130,6	136,1	140,1	135,8	127,6	141,4
421	143,8	141,4	137,2	148,9	135,7	137,2	136,4	137,4	139,1	119,8	137,8	140,7
468	139,7	138,3	140,3	150,0	123,0	137,9	134,2	140,3	138,7	130,2	138,8	140,1
491	139,5	140,6	140,6	149,0	134,2	136,6	125,4	137,3	136,0	127,2	135,4	140,1
498	144,6	144,2	140,6	150,0	137,8	138,0	134,3	133,4	137,1	129,4	140,2	143,2
499	144,5	144,8	141,7	149,5	137,3	136,5	134,1	137,3	132,0	137,4	135,9	141,1
659	140,3	139,7	140,5	145,1	135,4	136,9	134,6	131,3	137,3	133,5	139,6	142,4
736	140,6	139,9	137,8	141,8	131,0	133,9	133,8	135,6	139,9	133,2	136,7	140,4
785	141,5	140,1	137,7	148,1	134,7	136,0	131,1	137,7	137,7	128,6	134,2	139,2
793	140,9	141,3	136,6	141,4	136,0	139,0	134,9	129,4	134,3	137,8	138,2	139,9
MW	141,1	140,8	139,1	147,4	134,3	137,2	132,9	135,4	137,4	130,6	136,5	140,5
SA	2,14	1,88	2,70	3,06	4,41	2,11	4,19	4,01	2,75	5,80	3,52	1,50
p		0,840	0,018	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,372

4.2.1.5 Magnesium im Serum

Tabelle 4.24 zeigt den Serummagnesiumgehalt in mmol/l für jedes einzelne Tier, sowie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an jedem Untersuchungstag. Der Referenzbereich für Magnesium liegt laut (Kraft/Dürr 2005) bei 0,8-1,3 mmol/l. Damit bleiben die Mittelwerte an jedem Untersuchungstag im Referenzbereich. An den Tagen 30 und 33 wurden jedoch, gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3, statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$) höhere Werte

gemessen. An Tag 2 sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Werte festzustellen.

Tabelle 4.24: Versuch 2, Magnesium im Serum in mmol/l, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	0,9	1,1	1,0	1,0	1,1	1,1	1,3	1,0	0,9	1,1	1,1	1,1
397	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,1	1,0	0,7	0,8	1,1	1,1
420	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	0,8	1,0	1,0	1,1
421	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	0,9	1,1	1,1	0,9	1,1	1,1	1,0
468	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,1	1,0	1,1	1,2	1,2
491	1,0	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	0,8	0,9	1,0	1,0
498	0,8	0,9	0,8	0,9	0,9	1,1	1,0	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1
499	1,0	1,0	0,8	0,8	1,0	1,2	1,1	1,3	1,0	1,1	1,2	1,1
659	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	0,9	0,9	1,1	0,6	1,0	1,2	1,1
736	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9	1,1	0,8	1,1	1,0	1,0
785	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	1,2	1,1	1,2	1,2
793	0,9	0,9	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0
MW	1,0	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1
SA	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
p		0,562	0,037	0,173	0,706	0,224	0,707	0,173	0,088	0,064	0,005	0,002

4.2.1.6 1,25 Dihydroxyvitamin D₃

Tabelle 4.25 zeigt den Serum- 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ Gehalt von Versuch 2 über 33 Tage, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Aus Kostengründen wurden die Seren von jeweils 4 Tieren gepoolt. Bis Tag 5 ist ein Anstieg der Werte zu beobachten, danach fallen die Serumgehalte wieder ab. Der Referenzbereich liegt laut (Horst & Littledike, 1982) für erwachsene Rinder bei 14-67 pg/ml. Damit liegen zwar alle ermittelten Werte im Referenzbereich, aber es ergibt sich an Tag 9 ein hoch ($p < 0,01$) signifikanter Unterschied gegenüber dem Ausgangswert von Tag -3.

Tabelle 4.25: Versuch 2, 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ im Serum pg/ml, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323/397/ 420/421	31,1	19,1	44,7	41,7	43,5	21,7	18,3	8,2	32,5	23,7	12,9	12,6
468/491/ 498/499	19,8	30,0	27,9	61,7	54,5	33,0	20,6	23,2	16,3	22,6	16,5	43,0
659/736/ 785/793	23,2	21,2	32,9	78,5	52,7	20,3	12,4	14,7	48,7	19,0	15,5	13,1
MW	24,7	23,4	35,2	60,6	50,2	25,0	17,1	15,4	32,5	21,8	15,0	22,9
SA	5,8	5,8	8,6	18,4	5,9	7,0	4,2	7,5	16,2	2,5	1,9	17,4
p		0,802	0,156	0,100	0,006	0,957	0,141	0,164	0,700	0,465	0,050	0,873

4.2.1.7 Ketonkörper im Vollblut

Tabelle 4.26 zeigt die Ketonkörper im Vollblut für jedes Tier, sowie die Mittelwerte (MW), die Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) an jedem Blutentnahmetag. Der physiologische Gehalt an Ketonkörpern wird für laktierende Milchkühe mit $< 1,4 \mu\text{mol/l}$ angegeben (Iwersen *et al.*, 2009). Damit bleiben alle Versuchstiere zu jedem Zeitpunkt innerhalb des physiologischen Bereichs. Die statistische Auswertung ergab an den Tagen 12 und 33 statistisch signifikant (Tag 33), bzw. hoch signifikant (Tag 12), niedrigere Werte gegenüber Tag -3.

Tabelle 4.26: Versuch 2, Ketonkörper im Vollblut $\mu\text{mol/l}$, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,4	0,5	0,4	0,7	0,9	1,2	0,4
397	0,8	0,9	0,8	1,0	0,7	0,7	0,7	1,1	0,8	0,7	0,8	0,3
420	0,4	0,4	0,8	0,6	0,4	0,2	0,8	0,3	0,3	0,3	0,6	0,3
421	1,1	0,7	0,7	0,9	0,6	0,6	0,4	0,6	0,7	0,6	0,8	0,6
468	0,6	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,7	0,8	0,7	1,1	0,4	0,6
491	0,6	0,4	0,5	1,0	0,4	0,3	0,7	0,4	1,2	0,6	0,7	0,8
498	0,7	0,4	0,7	0,3	0,4	0,3	0,5	0,3	0,5	0,4	0,3	0,4
499	0,9	0,7	1,2	1,2	0,8	0,6	0,6	0,7	0,8	0,7	0,8	0,6
659	0,6	0,9	1,2	0,7	0,8	0,3	0,6	0,3	0,4	0,9	1,3	0,7
736	1,2	0,8	0,4	1,1	0,6	0,3	0,4	0,7	0,5	0,5	0,6	0,7
785	0,9	0,3	0,6	0,8	1,2	0,2	1,1	0,6	0,6	0,3	0,4	0,3
793	0,9	0,6	0,1	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,3	1	0,4	0,4
MW	0,76	0,57	0,67	0,78	0,64	0,41	0,63	0,57	0,63	0,67	0,69	0,51
SA	0,25	0,23	0,32	0,27	0,24	0,17	0,19	0,24	0,25	0,27	0,31	0,18
p		0,068	0,443	0,818	0,259	<0,001	0,188	0,072	0,211	0,398	0,574	0,011

4.2.2 Klinische Erscheinungen

Tabelle 4.27 zeigt die während Versuch 2 aufgetretenen klinischen Erscheinungen der Versuchstiere. Es wird jeweils nur das erkrankte Organsystem benannt. Während Versuch 2 erkrankten drei Tiere an einer Eutererkrankung.

Tabelle 4.27: Versuch 2, Klinische Erscheinungen der Tiere an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323												
397						Euter	Euter					
420												
421												
468												
491												
498												
499												
659												
736						Euter	Euter					
785												
793				Euter	Euter	Euter						

4.2.3 Parameter im Urin

4.2.3.1 Calcium im Urin

In Tabelle 4.28 wird der Calcium/Kreatinin-Quotient (Gesamtcalcium) im Urin jedes Versuchstieres angegeben, sowie für jeden Untersuchungstag Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) über einen Versuchszeitraum von 36 Tagen. Während der Verabreichung des Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* steigt die durchschnittliche Calciumexkretion zunächst an und fällt nach Absetzen des Präparates auf Werte unter dem Ausgangsniveau ab, um gegen Ende des Versuches wieder auf ihr ursprüngliches Niveau anzusteigen. Die statistische Auswertung ergab signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte gegenüber den Werten von Tag -3 an Tag 2 und statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$) höhere Werte an den Tagen 5, 9 und 12. An den übrigen Tagen ist kein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 feststellbar.

Tabelle 4.28: Versuch 2, Calcium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	0,03	0,05	0,35	1,38	0,66	0,54	0,18	0,03	0,02	0,04	0,21	0,03
397	0,02	0,02	0,23	0,25	0,42	0,15	0,02	0,02	0,04	0,05	0,17	0,09
420	0,01	0,01	0,58	0,84	0,72	0,63	0,04	0,02	0,02	0,13	0,11	0,17
421	0,27	0,02	0,31	0,45	0,74	0,55	0,29	0,04	0,03	0,02	0,06	0,05
468	0,03	0,04	0,40	0,27	0,38	0,61	0,56	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04
491	0,04	0,03	0,08	0,46	0,34	0,33	0,11	0,03	0,04	0,04	0,05	0,03
498	0,02	0,01	0,12	0,36	0,5	0,45	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03
499	0,22	0,06	0,45	1,10	0,71	0,31	0,22	0,12	0,02	0,07	0,09	0,08
659	0,45	0,06	0,71	2,65	1,77	1,04	0,72	0,03	0,05	0,80	0,28	0,20
736	0,02	0,06	0,12	0,75	0,4	0,05	0,02	0,02	0,03	0,02	0,06	0,04
785	0,13	0,04	0,64	1,25	1,15	0,61	0,33	0,02	0,04	0,05	0,04	0,03
793	0,04	0,02	0,03	0,02	0,33	0,49	0,85	0,02	0,04	0,02	0,03	0,04
MW	0,11	0,04	0,34	0,81	0,68	0,48	0,28	0,03	0,03	0,11	0,10	0,07
SA	0,14	0,02	0,23	0,72	0,42	0,26	0,28	0,03	0,01	0,22	0,08	0,06
p		0,488	0,007	<0,001	<0,001	<0,001	0,094	0,214	0,644	0,954	0,236	0,544

4.2.3.2 Phosphat im Urin

Tabelle 4.29 zeigt den Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin während Versuch 2. Es werden neben den Werten für jedes Tier Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p) für jeden Untersuchungstag angegeben. Es ist kein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte zu erkennen, nur an den Tagen 0, 2 und 26 finden sich signifikant ($p < 0,05$) höhere (Tag 26) bzw. niedrigere (Tage 0 und 2) Werte im Vergleich zu den Ausgangswerten von Tag -3.

Tabelle 4.29: Versuch 2, Phosphat/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	0,17	0,14	0,14	0,19	0,15	0,16	0,17	0,15	0,20	0,28	0,22	0,19
397	0,16	0,14	0,13	0,19	0,19	0,20	0,15	0,15	0,25	1,37	0,16	0,28
420	0,08	0,11	0,11	0,16	0,11	0,11	0,11	0,14	0,53	0,38	0,11	0,13
421	0,16	0,14	0,11	0,15	0,15	0,18	0,16	0,19	0,23	0,16	0,16	0,26
468	0,21	0,14	0,16	0,18	0,15	0,16	0,15	0,15	0,19	0,18	0,22	0,22
491	0,24	0,14	0,17	0,27	0,17	0,23	0,22	0,20	0,18	0,26	0,24	0,19
498	0,40	0,19	0,24	0,94	0,99	0,67	0,17	0,40	0,59	0,36	0,15	0,16
499	0,25	0,14	0,02	0,24	0,15	0,10	0,10	0,12	0,15	0,18	0,17	0,19
659	0,15	0,17	0,11	0,30	0,21	0,24	0,12	0,17	0,18	0,25	0,23	0,27
736	0,23	0,15	0,12	0,29	0,16	0,17	0,22	0,27	0,38	0,24	0,29	0,35
785	0,04	0,08	0,11	0,21	0,17	0,14	0,10	0,14	0,18	0,25	0,16	0,25
793	0,24	0,08	0,02	0,10	0,10	0,08	0,15	0,10	0,14	0,25	0,14	0,18
MW	0,19	0,13	0,12	0,27	0,22	0,20	0,15	0,18	0,27	0,35	0,19	0,22
SA	0,09	0,03	0,06	0,22	0,24	0,16	0,04	0,08	0,15	0,33	0,05	0,06
p		0,019	0,029	0,402	0,299	0,564	0,157	0,728	0,386	0,021	0,829	0,384

4.2.3.3 Natrium im Urin

In Tabelle 4.30 werden die Natrium/Kreatinin-Quotienten für jedes Tier an jedem Untersuchungstag von Versuch 2 dargestellt. Außerdem werden die jeweiligen Mittelwerte (MW), die Standardabweichung (SA) und die Ergebnisse der statistischen Auswertung (p) angegeben. Ein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte ist nicht zu erkennen, nur an Tag 16 sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Werte gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 feststellbar.

Tabelle 4.30: Versuch 2, Natrium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	2,21	6,03	0,53	7,34	7,21	0,21	0,66	5,22	3,63	0,75	2,61	2,60
397	0,66	0,13	2,75	0,79	0,36	3,46	2,13	0,88	0,07	1,94	1,57	10,45
420	8,63	0,11	0,08	3,09	0,32	0,36	0,11	0,65	1,21	5,84	8,85	6,64
421	8,29	1,61	3,54	10,57	1,19	0,48	3,00	17,98	9,34	7,72	12,67	4,58
468	0,53	0,33	0,28	0,68	0,68	0,56	0,63	1,01	1,78	1,87	1,67	0,25
491	4,51	2,15	1,04	0,94	0,63	0,53	0,71	4,89	1,06	1,76	0,21	0,36
498	1,37	0,18	2,21	9,20	2,54	0,71	0,05	3,37	7,70	0,35	4,52	1,39
499	7,13	6,26	15,88	32,00	1,73	1,98	1,67	16,22	5,31	1,06	10,47	34,85
659	6,81	9,38	2,79	17,39	3,19	2,47	0,77	4,11	5,27	3,59	8,21	11,64
736	5,16	1,05	0,45	1,01	1,41	12,95	2,33	0,10	0,57	0,03	1,97	1,45
785	0,42	0,67	0,78	3,62	0,39	1,24	0,29	1,63	0,92	0,32	0,56	0,50
793	2,74	1,25	8,81	2,86	0,50	0,17	0,21	0,05	0,32	0,72	1,30	1,94
MW	4,04	2,43	3,26	7,46	1,68	2,09	1,05	4,68	3,10	2,16	4,55	6,39
SA	3,12	3,06	4,64	9,26	1,97	3,57	0,98	6,09	3,13	2,40	4,33	9,77
p		0,126	0,341	0,238	0,053	0,050	0,015	0,750	0,470	0,113	0,885	0,885

4.2.3.4 Kalium im Urin

Tabelle 4.31 zeigt den Kalium/Kreatinin-Quotienten im Urin während Versuch 2. Dargestellt werden an jedem Untersuchungstag die Werte für jedes einzelne Tier, sowie Mittelwert (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Auswertung (p). An den Tagen 5, 9 und 30 sind statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3 feststellbar. An allen übrigen Untersuchungstagen ist kein statistisch signifikanter Unterschied zu ermitteln.

Tabelle 4.31: Versuch 2, Kalium/Kreatinin-Quotienten im Urin, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 0, 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30 und 33 von 12 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 0	Tag 2	Tag 5	Tag 9	Tag 12	Tag 16	Tag 19	Tag 23	Tag 26	Tag 30	Tag 33
323	22,03	30,53	19,26	34,35	33,99	20,71	33,48	26,80	27,24	21,16	27,86	24,31
397	16,42	22,45	23,37	31,25	32,10	32,05	16,37	15,44	17,68	21,46	29,36	29,89
420	7,80	14,70	10,58	26,26	19,30	15,19	15,53	15,23	11,85	13,03	17,74	13,65
421	20,36	24,46	30,90	25,90	30,51	30,39	41,08	22,43	23,59	19,69	26,94	24,90
468	26,16	22,22	19,79	24,66	31,05	21,61	24,02	30,57	14,63	26,62	30,77	20,94
491	23,67	31,46	30,90	31,81	24,79	35,05	46,74	24,14	18,52	24,54	28,07	26,79
498	21,70	21,39	18,44	21,86	22,59	26,63	17,82	21,10	18,92	20,86	18,62	21,37
499	18,52	25,89	18,02	25,26	26,21	35,92	28,19	21,14	19,43	17,71	30,48	24,69
659	20,83	30,77	27,97	44,17	33,48	26,83	20,98	25,17	18,38	28,12	34,08	31,88
736	23,91	26,01	29,38	44,73	37,80	27,74	12,70	20,29	22,09	26,11	38,60	35,48
785	11,77	23,67	20,74	28,56	30,81	23,78	29,20	27,16	24,67	23,56	23,23	27,62
793	35,72	22,33	23,03	4,75	14,58	9,48	12,55	18,67	24,67	20,23	21,22	24,37
MW	20,74	24,66	22,70	28,63	28,10	25,45	24,89	22,34	20,14	21,93	27,25	25,49
SA	7,05	4,75	6,17	10,47	6,75	7,85	11,16	4,68	4,47	4,20	6,19	5,62
p		0,125	0,477	0,042	0,016	0,137	0,288	0,518	0,805	0,622	0,025	0,082

4.2.4 Parameter in der Milch

4.2.4.1 Calcium in der Milch

Tabelle 4.32 zeigt den Calciumgehalt (Gesamtcalcium) in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SA). Es wurden der erste und letzte Versuchstag, sowie die beiden Tage mit höchstem (Tag 5) bzw. niedrigsten (Tag 19) Serumcalciumgehalt ausgewählt. Der Referenzwert liegt laut (Töpel, 2004) bei 1,25 g/kg und laut (Walser *et al.*, 1990) bei 1,13 g/kg. Die statistische Auswertung zeigt zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede gegenüber Tag -3.

Tabelle 4.32: Versuch 2, Calciumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 5	Tag 19	Tag 30
323	1,32	1,38	1,03	1,32
397	1,32	1,27	1,32	1,11
498	1,37	1,56	1,35	1,31
659	1,37	1,39	1,30	1,21
MW	1,35	1,40	1,25	1,24
SA	0,03	0,12	0,17	0,09
p		0,406	0,255	0,081

4.2.4.2 Phosphat in der Milch

Tabelle 4.33 zeigt den Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, sowie von jedem Untersuchungstag den Mittelwert (MW), die Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Der Referenzwert für reife Kuhmilch liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,94 g/kg. Es ergeben sich zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede gegenüber den Ausgangswerten von Tag -3.

Tabelle 4.33: Versuch 2, Phosphatgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 5	Tag 19	Tag 30
323	1,02	1,06	1,08	0,90
397	1,01	0,97	1,04	1,00
498	0,98	0,70	0,99	0,98
659	1,01	1,08	0,98	1,02
MW	1,01	0,95	1,02	0,98
SA	0,08	0,16	0,05	0,09
p		1,000	0,507	0,486

4.2.4.3 Magnesium in der Milch

Tabelle 4.34 zeigt den Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p). Der Referenzwert für Magnesium in reifer Kuhmilch liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,12 g/kg und laut (Töpel, 2004) bei 0,10 g/kg. Die statistische Auswertung ergibt zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied gegenüber Tag -3.

Tabelle 4.34: Versuch 2, Magnesiumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 5	Tag 19	Tag 30
323	0,104	0,109	0,115	0,109
397	0,113	0,109	0,113	0,100
498	0,117	0,121	0,117	0,093
659	0,110	0,107	0,106	0,115
MW	0,111	0,111	0,113	0,104
SA	0,05	0,06	0,04	0,09
p		0,909	0,647	0,271

4.2.4.4 Natrium in der Milch

Tabelle 4.35 zeigt den Natriumgehalt in g/kg in der Milch, sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Der Referenzwert für Kuhmilch liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 0,42 g/kg und laut (Töpel, 2004) bei 0,50 g/kg. Auch hier sind gegenüber Tag -3 zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede feststellbar.

Tabelle 4.35: Versuch 2, Natriumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

Tier Nr.	Tag -3	Tag 5	Tag 19	Tag 30
323	0,44	0,46	0,66	0,46
397	0,47	0,45	0,82	0,55
498	0,48	0,45	0,48	0,49
659	0,46	0,54	0,45	0,48
MW	0,46	0,48	0,60	0,49
SA	0,01	0,04	0,16	0,04
p		0,613	0,200	0,176

4.2.4.5 Kalium in der Milch

Tabelle 4.36 zeigt den Kaliumgehalt in g/kg in der Milch sowie Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und das Ergebnis der statistischen Auswertung (p). Der Referenzwert für Kalium in reifer Kuhmilch liegt laut (Walser *et al.*, 1990) bei 1,44 g/kg. (Töpel, 2004) gibt den Referenzwert mit 1,5 g/kg an. Ein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Ausgangswerten ist auch hier zu keinem Zeitpunkt zu ermitteln.

Tabelle 4.36: Versuch 2, Kaliumgehalt in g/kg in der Milch, Mittelwerte (MW), Standardabweichung (SA) und statistische Signifikanz (p) an den Tagen -3, 5, 19, und 30 von 4 Versuchstieren mit Tierkennnummer (Tier Nr.)

TierNr.	Tag -3	Tag 5	Tag 19	Tag 30
323	1,73	1,69	1,68	1,70
397	1,59	1,56	1,27	1,66
498	1,66	1,53	1,62	1,55
659	1,61	1,46	1,40	1,66
MW	1,65	1,56	1,49	1,64
SA	0,06	0,09	0,18	0,06
p		0,178	0,486	0,915

5 Diskussion

5.1 Studiendesign

5.1.1 Auswahl der Versuchstiere

5.1.1.1 Versuch 1

Für Versuch 1 wurden 12 Milchkühe ausgewählt, die das Plateau ihrer Milchleistung (6 bis 10 Wochen post partum) erreicht hatten. Um mögliche Beeinflussungen durch Trächtigkeit zu vermeiden, wurden nur Tiere ausgewählt, die noch nicht wieder besamt waren. Ein weiteres Kriterium war, dass die Tiere angebotenes Futter aus einem Eimer problemlos aufnehmen, um die sichere Verabreichung der Testsubstanz zu gewährleisten. Da nur begrenztes Tiermaterial zur Verfügung stand, musste in Kauf genommen werden, dass die Kühe unterschiedlich alt und unterschiedlich schwer waren, und Fleckvieh und Kreuzungen von Fleckvieh mit Holstein in verschiedenen Generationen vertreten waren. Aus demselben Grund wurde auf eine Kontrollgruppe verzichtet. Indem von jedem Versuchstier vor Verabreichung der Testsubstanz zwei Mal im Abstand von drei Tagen Blut- Urin- und Milchproben entnommen wurden und auf dem Plateau der Milchleistung größere Schwankungen der Werte nicht zu erwarten sind, konnten die während der Versuche ermittelten Werte jeweils mit den Ausgangswerten vor Beginn der Verabreichung verglichen werden. Die Regierung von Oberbayern teilte auf Anfrage mit, dass der Versuch nur anzeige-, nicht aber genehmigungspflichtig ist.

5.1.1.2 Versuch 2

Für Versuch 2 wurden dieselben Tiere wie für Versuch 1 ausgewählt. Dies geschah aus praktischen Gründen, da die Tiere immer noch im entsprechenden Laktationsstadium und das Fressen aus einem Eimer bereits gewohnt waren. Zudem waren sie noch nicht besamt, und es war genügend Zeit seit dem ersten Versuch vergangen (etwa 4 Wochen), um sicher zu stellen, dass keine Beeinflussung der Messwerte durch die vorangegangene Wirkstoffverabreichung zu befürchten war.

5.1.2 Haltung und Fütterung der Versuchstiere

Alle 12 Versuchstiere standen im selben Stallabteil, erhielten das gleiche Grundfutter (Total-Mixed-Ration, TMR) ad libidum und zusätzlich, entsprechend ihrer individuellen Milchleistung, ein Milchleistungsfutter. Der Milchentzug erfolgte bei allen Tieren in beiden Versuchen mit demselben Melkroboter. Die Futterproben wurden frisch am ersten Tag von Versuch 1, am letzten Tag von Versuch 1, sowie am letzten Tag von Versuch 2 entnommen. Geringe tägliche Schwankungen sind jedoch zu erwarten, da auch die Zusammensetzung des Silos, aus dem einige der Komponenten entnommen wurden, natürlicherweise nicht homogen ist. Die Mischverhältnisse wurden jedoch während beider Versuche nicht verändert. Von beiden Krafffutterarten wurde jeweils im gesamten Versuchszeitraum dieselbe Charge verfüttert. Bei dem Stall handelt es sich um einen Laufstall mit Betonspalten, auf denen Gummimatten verlegt waren, und der mit Liegeboxen mit Gummimatten ausgestattet war.

5.1.3 Ablauf der Studie

5.1.3.1 Verabreichung des Extraktes

In den vorhergegangenen Studien (Schlötterer-Wieser, 2008), (Kehrle, 2011), wurde den Versuchstieren die Testsubstanz jeweils mit einem Boluseingebener verabreicht. Diese Methode ist in der Praxis erprobt und gewährleistet, dass die gesamte Menge des Präparates aufgenommen wird. Allerdings gibt es immer häufiger Berichte über teils schwere Verletzungen der Speiseröhre bei der Verabreichung von Boli (Metzner & Mann, 2011). Zudem war es in der vorliegenden Studie nötig, den Tieren wiederholt (Versuch 1: 10 mal, Versuch 2: 8 mal) die Testsubstanz zu verabreichen. Erfahrungsgemäß wehren sich die Tiere umso mehr gegen das Eingeben mittels Boluseingebener, je häufiger dies versucht wird. Deshalb wurden in der vorliegenden Studie die Tiere vor Beginn von Versuch 1 daran gewöhnt, aus einem Eimer zu fressen. Dazu wurden ihnen Zuckerrübenschnitzel und Melasse angeboten, mit denen dann während der Versuche die Testsubstanz vermischt wurde. Diese Mischung wurde von allen Tieren zu jedem Zeitpunkt vollständig gefressen. Jedoch ist bei der Verabreichung darauf zu achten, dass kein anderes Tier das Futter frisst.

5.1.2.2 Blutentnahme

Die Entnahme der Blutproben erfolgte durch Punktion der Vena coccygea. Dabei muss nur der Schwanz fixiert werden, und es ist keine Hilfsperson erforderlich. Einzelne Tiere drohten bei der Punktion auszuschlagen. Diesen wurde aus Sicherheitsgründen ein Kopfhalter angelegt und die Vena jugularis dexter bzw. sinister punktiert. Die Blutprobenentnahme erfolgte jeweils vormittags, um eine eventuelle circadiane Rhythmik der Werte auszuschließen.

5.1.2.3 Uringewinnung

Zur Vermeidung eines Infektionsrisikos für die Versuchstiere wurde auf das Katheterisieren der Harnblase verzichtet und Spontanurin gewonnen. Dazu wurde durch geduldiges Streichen mit einem Strohbüschel in dorso-ventraler Richtung an der Vulva bei allen Tieren an jedem Untersuchungstag eine Probe gewonnen. Dabei war feststellbar, dass eine gewisse Konditionierung der Tiere eintritt, so dass es immer weniger Zeit in Anspruch nahm Urinproben zu gewinnen. Natürlicherweise enthält so gewonnener Mittelstrahlurin geringe Mengen Kot. Dieser Fehler ist jedoch zu vernachlässigen. Auch die Gewinnung der Urinproben erfolgte jeweils zur etwa gleichen Zeit, um tageszeitabhängige Effekte auszuschließen.

5.1.2.4 Milchprobengewinnung

Die Gewinnung der Milchproben erfolgte mit dem Probenentnahmesystem des Melkroboters (Shuttle). Dabei wurde bei jeder Melkung kontinuierlich vom gesamten Gemelk eine kleine Menge entnommen und in Gläschen abgefüllt. Dieses System gewährleistet eine repräsentative Probe des Tagesgemelks. Vor jeder Untersuchung wurden die Proben gründlich homogenisiert.

5.1.2.5 Wahl der Beurteilungskriterien

Um die Effekte einer längerfristigen Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* zu überprüfen, wurden zunächst dieselben Parameter bestimmt wie bei den vorangegangenen Versuchen (Schlötterer-Wieser, 2008; Kehrle, 2011), Calcium, Phosphat, Magnesium, Natrium, Kalium im Serum und Calcium, Phosphat, Natrium und Kalium im Urin nur (Kehrle, 2011). Außerdem wurden klinische Symptome dokumentiert und ein Ketosetest durchgeführt.

Roux (1979) verabreichte einen Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* an kalbende Milchkühe und fand erhöhte Calciumspiegel im Kolostrum. Hidiroglou & Proulx (1982) verabreichten Vitamin D und 25 Hydroxyvitamin D vor der Kalbung und untersuchten die Milch auf ihren Mineralstoffgehalt bis zum fünften Monat der Laktation. Dabei fanden sie bei der Gruppe, die 25 Hydroxyvitamin D erhielt, am zweiten und dritten Tag höhere Calciumspiegel in der Milch als bei den Gruppen, die Vitamin D, bzw. keine Behandlung erhalten hatten. Goumi *et al* (1996) untersuchten laktierende Ziegen, bei denen der Serumcalciumspiegel durch eine Injektion mit $1\alpha(\text{OH})$ Hydroxyvitamin D_3 gesteigert worden war, und fanden erhöhte Calcium- und Phosphatspiegel in der Milch.

In der vorliegenden Studie sollte unter anderem überprüft werden, ob sich während der Hochlaktation der Calciumgehalt in der Milch durch die Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* verändern lässt.

5.1.4 Dosierung des Wirkstoffes und Verabreichungsplan

Da es in der Praxis häufig nicht möglich ist, die Tiere vor Verabreichung einer prophylaktischen Medikation zu wiegen, wurde auch hier eine einheitliche Dosierung gewählt.

In Versuch 1 erhielt jedes Tier an jedem Verabreichungstag 10 Gramm eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum*, das $2,5 \mu\text{g}$ glycosidisch gebundenes $1,25$ Dihydroxyvitamin D_3 pro Gramm enthielt. Somit erhielt jede Kuh in Versuch 1 10 Tage lang täglich $25 \mu\text{g}$ $1,25$ Dihydroxyvitamin D_3 (Gesamtdosis Versuch 1: $250 \mu\text{g}$ $1,25$ Dihydroxyvitamin D_3).

In Versuch 2 wurde eine intermittierende Verabreichung gewählt, um die Eigensynthese des Hormons aufrecht zu erhalten. Dabei erhielt jedes Tier fünfmal

(jeden zweiten Tag) 10 Gramm desselben Extraktes, also jeweils 25 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃. Anschließend wurden, um die Dosierung langsam zu erniedrigen, jeweils wieder jeden zweiten Tag einmal fünf Gramm des Extraktes (entspricht 12,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃), einmal drei Gramm (7,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃) und einmal ein Gramm (2,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃) verabreicht. Dieses „Ausschleichen“ sollte ein Absinken der Werte unter die in der Literatur angegebenen Referenzwerte wie in Versuch 1 verhindern. Insgesamt wurden in Versuch 2 147,5 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro Tier gegeben.

Das Gewicht der Tiere betrug zwischen 537 und 848 kg. Damit erhielten die Tiere zwischen 0,029 und 0,046 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro kg Körpermasse und Tag (Versuch 1). Die Gesamtdosis pro Kilogramm Körpermasse betrug in Versuch 1 zwischen 0,29 µg und 0,46 µg.

Kehrle (2011) verabreichte in ihrer Studie einmalig 0,5 µg pro kg Körpermasse. In der vorliegenden Studie erhielten alle Tiere damit insgesamt an allen zehn Verabreichungstagen weniger 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ als bei Kehrle (2011) bei einer einzelnen Verabreichung. Jones (2008) stellte zwar fest, dass immer noch sehr wenig über die Toxizität von Vitamin D bekannt ist und bei den meisten bisherigen Studien wurde der exakte Gehalt an 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in dem verabreichten Pflanzenextrakt nicht analytisch bestimmt, dennoch dürfte er in wohl in den allermeisten vergangenen Arbeiten deutlich über der hier verwendeten Dosierung gelegen haben. Eine calcinogene Wirkung der in dieser Studie eingesetzten Dosierung kann somit ausgeschlossen werden.

5.2 Kritik der Ergebnisse

5.2.1 Klinische Erscheinungen im Versuchszeitraum

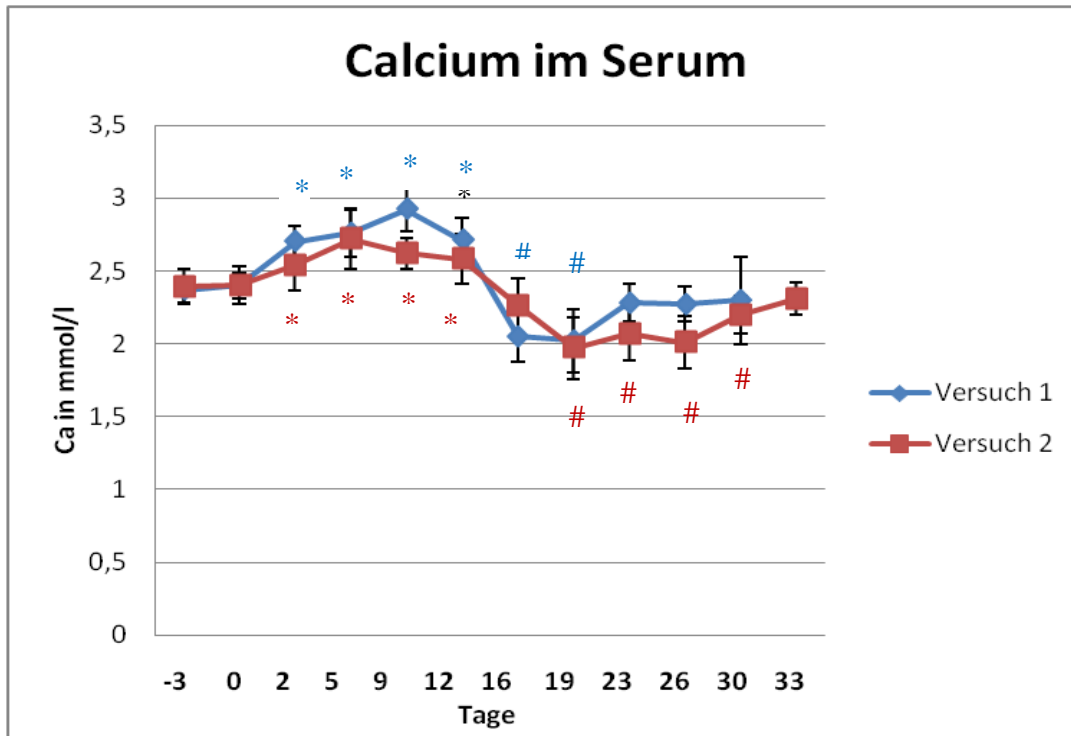
Während Versuch 1 erkrankten drei Versuchstiere an den Klauen. Eines der Tiere war jedoch auch kurz zuvor schon an derselben Klaue erkrankt. Im zweiten Versuch mussten drei Tiere wegen einer Eutererkrankung behandelt werden. Zwar treten sowohl Klauen- als auch Eutererkrankungen gehäuft in Folge von hypocalcämischen Zuständen auf (Reinhardt *et al.*, 2011) jedoch ist hier keine Häufung der Erkrankungen zu den Zeiten zu sehen, an oder nach denen der Serumcalciumspiegel im subnormalen Bereich war. Deshalb ist davon auszugehen, dass das Auftreten der Erkrankungen in keinem ursächlichen Zusammenhang mit der Verabreichung des Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* zu sehen ist. Schließlich prädisponiert auch die Hochlaktation, in der sich die Tiere zum Zeitpunkt der Studie befanden, zum Auftreten solcher Erkrankungen.

5.2.2 Serumparameter

5.2.2.1 Calcium im Serum

Vor Verabreichung der Testsubstanz lagen die Serumcalciumwerte, wie in Abbildung 5.1. ersichtlich, von allen Tieren im Referenzbereich, der von Kraft und Dürr (2005) mit 2,3 bis 2,8 angegeben wird. Die Werte steigen während der zehntägigen Verabreichung ständig an und erreichen am Tag der letzten Verabreichung (Tag 9) ihren Höhepunkt mit durchschnittlich 2,92 mmol/l (Versuch 1) bzw. 2,62 mmol/l (Versuch 2). Bereits an Tag 2 ist dieser Anstieg hoch signifikant (Versuch 1) bzw. signifikant (Versuch 2). An den Tagen 5 und 9 werden in beiden Versuchen hoch signifikant höhere Werte gemessen, an Tag 12 ist der durchschnittliche Calciumgehalt des Serums in Versuch 1 noch hoch signifikant, in Versuch 2 signifikant höher. Danach fallen die Werte wieder ab und erreichen ihren niedrigsten Wert in beiden Versuchen an Tag 19. Dabei werden sowohl die Ausgangswerte als auch die von Kraft und Dürr (2005) angegebenen Referenzwerte mit durchschnittlich

2,02 mmol/l (Versuch 1) bzw. 1,97 mmol/l, (Versuch 2) deutlich unterschritten (Siehe Abbildung 5.1). Diese Mittelwerte liegen in beiden Versuchen hoch signifikant unter den Ausgangswerten von Tag -3. In Versuch 2 werden, trotz der Verabreichung von *Solanum glaucophyllum* nur an jedem zweiten Tag und damit halbierten Dosis und dem „Ausschleichen“ noch bis zum Tag 30, also 15 Tage nach der letzten Verabreichung, signifikant niedrigere Werte gemessen. Die Standardabweichung ist bei beiden Versuchen mit maximal 0,22 sehr gering. Der deutliche Abfall nach Absetzen des Präparates könnte durch eine negative Feedbackreaktion ausgelöst werden. Es ist seit längerem bekannt, dass die Synthese von 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, wie die aller Steroidhormone einer Produkthemmung unterliegt. Die 1, α - Hydroxylase, die 25 Hydroxyvitamin D₃ zu 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ hydroxyliert wird durch einen hohen 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ –Spiegel gehemmt (Zhu & DeLuca, 2012). In Versuch 2 wurde deshalb der Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* nur jeden zweiten Tag verabreicht und am Ende der Verabreichung noch dreimal eine jeweils reduzierte Menge gegeben. In der vorliegenden Studie konnte damit jedoch ein Absinken des Calciumspiegels unter die physiologischen Werte nicht verhindert werden. Es ist zu beachten, dass wahrscheinlich schon nach einmaliger Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* der Serumcalciumspiegel nach einem kurzfristigen Anstieg auf subnormale Werte absinkt (Horst *et al.*, 2003). Dies kann, beim Einsatz im peripartalen Zeitraum die Gefahr der Erkrankung an einer Gebärpause erhöhen. Wenn aber das entsprechende Tier nicht innerhalb von 72 Stunden nach Verabreichung kalbt und eine erneute Gabe des Extraktes notwendig wird, ist die Gefahr eines Festliegens nach Absetzen des Präparates noch größer. Ein Behandlungsschema für diesen nicht seltenen Fall muss noch gefunden werden.



*: statistisch signifikant höhere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

#: statistisch signifikant niedrigere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

Abbildung 5.1: mittlere Serumcalciumwerte mit Standardabweichung von 12 Tieren, Versuche 1 und 2 in mmol/l, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm

Interessant ist auch, dass die Wirkung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* offenbar nicht linear mit der Dosis steigt (Siehe Abbildung 5.2.). Da beide Tiere die gleiche Dosis des Extraktes erhielten, war die Dosierung pro Kilogramm Körpermasse bei der schwereren Kuh (420, 848 kg) deutlich niedriger ($0,029 \mu\text{g/kg KM}$ und Tag) als bei der leichteren Kuh (491, 537 kg) ($0,046 \mu\text{g/kg KM}$ und Tag). Dennoch ist bei beiden Tieren ein ähnlicher Anstieg des Serumcalciumspiegels zu beobachten. Der Abfall der Werte nach Absetzen des Präparates war sogar bei dem schwereren Tier ausgeprägter als bei der leichteren Kuh. Ein Grund dafür konnte jedoch nicht gefunden werden.

Dieser gewichtsunabhängige Effekt auf den Calciumgehalt im Serum deutet darauf hin, dass die Dosis noch weiter verringert werden kann. Eine effektive Dosis, die gerade noch den Serumcalciumspiegel wirksam erhöht, jedoch nur eine geringfügig

erhöhte Calciumexkretion über die Nieren zur Folge hat, sollte in weiteren Studien ermittelt werden (siehe auch 5.2.3.1 Calcium im Urin).

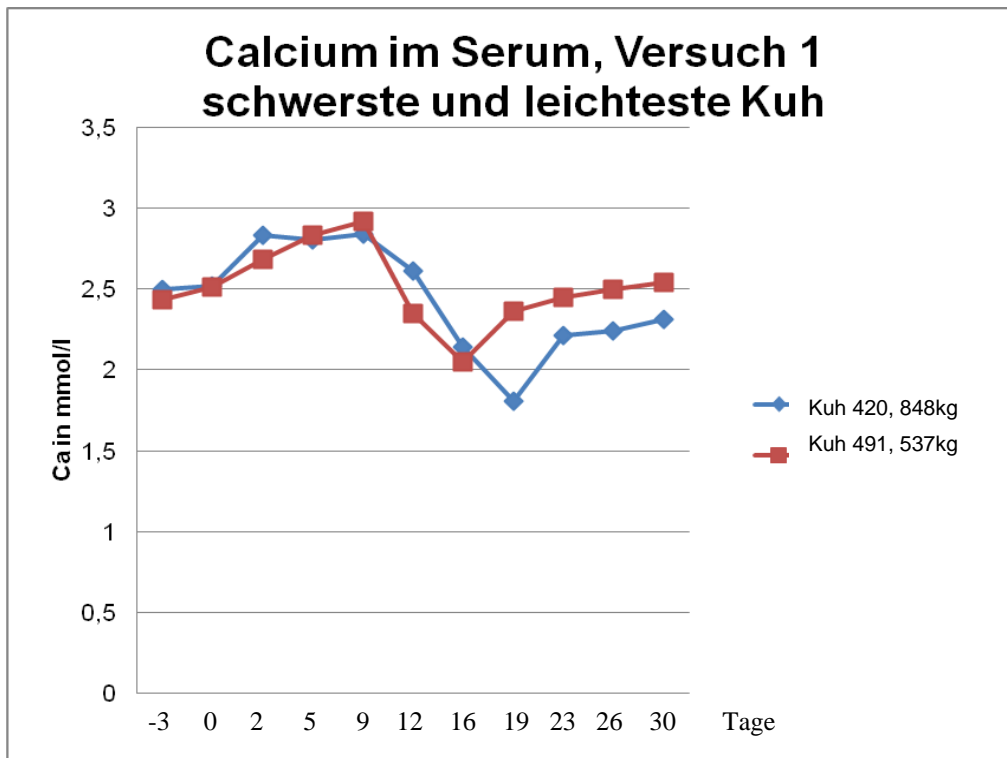
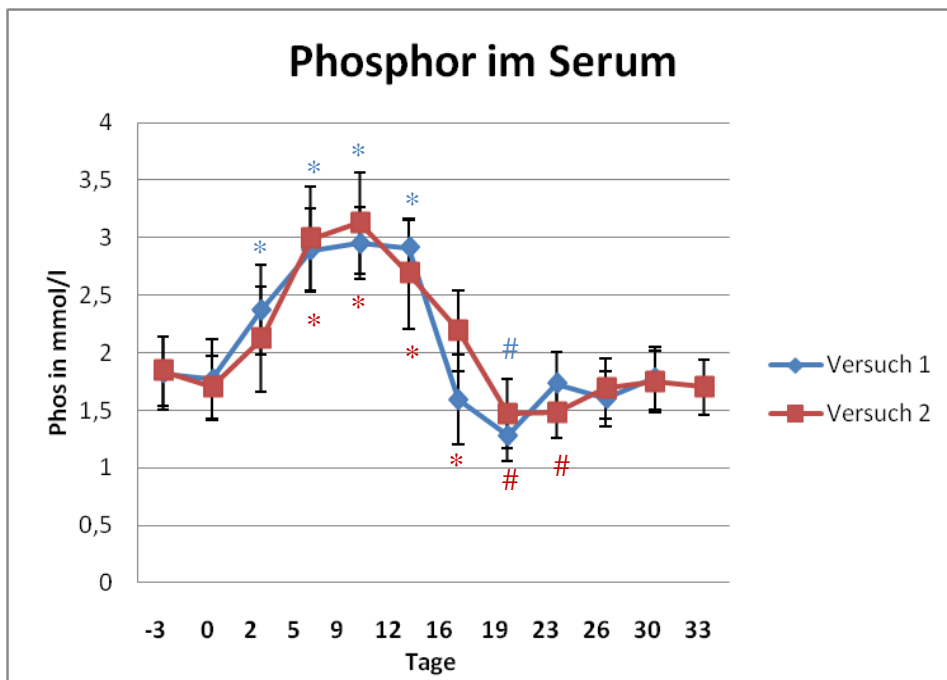


Abbildung 5.2: Calcium im Serum der schwersten (420, 848kg) und der leichtesten (491, 537kg) Kuh, Versuch 1, Präparat Verabreichung: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm

5.2.2.2 Phosphat im Serum

Die Entwicklung des Serumphosphatspiegels zeigt einen ganz ähnlichen Verlauf wie die des Serumcalciumspiegels. Vor der ersten Verabreichung lagen die Serumphosphatwerte bei beiden Versuchen weitgehend im Referenzbereich, der von Kraft und Dürr (2005) mit 1,6 bis 2,3 mmol/l angegeben wird. Bis zur letzten Verabreichung (Tag 9) steigt der Serumphosphatspiegel bei allen Tieren an und erreicht mit durchschnittlich 2,95 mmol/l (Versuch 1) bzw. sogar 3,13 mmol/l (Versuch 2) Werte deutlich über dem angegebenen Referenzbereich. Statistisch signifikant höher sind die Werte von Tag 2 bis Tag 12 (Versuch 1), bzw. von Tag 5 bis Tag 16 (Versuch 2). Danach sinkt der Serumphosphatgehalt der Versuchstiere deutlich ab, so dass an Tag 19 mit durchschnittlich nur noch 1,28 mmol/l (Versuch 1),

bzw. 1,47 mmol/l (Versuch 2), der angegebene Referenzwert deutlich unterschritten wird. Signifikant niedrigere Werte als die Ausgangswerte von Tag -3 werden an Tag 19 (Versuch 1) bzw. an Tag 19 und 23 (Versuch 2) gemessen. Anschließend ist ein langsamer Anstieg der Werte auf das Ausgangsniveau bis zum Tag 30 feststellbar. Auch hier ist die Standardabweichung mit maximal 0,48 relativ niedrig.



*: statistisch signifikant höhere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

#: statistisch signifikant niedrigere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

Abbildung 5.3: mittlere Serumphosphatgehalte in mmol/l und Standardabweichung von 12 Tieren, Versuche 1 und 2, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm

5.2.2.3 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ im Serum

Aus Kostengründen konnten von Versuch 1 nur bis zum Tag 5 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ -Werte bestimmt werden. Deshalb ist hier nur ein deutlicher Anstieg auf Werte deutlich über dem von Horst & Littledike (1982) angegebenen Referenzbereich von 14 bis 67 pg/ml zu sehen, und es kann nicht beurteilt werden, wie sich der 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ –Spiegel nach Absetzen des Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* entwickelt.

Von Versuch 2 wurden ebenfalls aus Kostengründen jeweils die Seren von vier Tieren gepoolt und damit pro Untersuchungstag nur drei Proben untersucht. Hier ist ebenfalls ein Anstieg der Werte zu sehen, der aber deutlich geringer ausfällt als bei Versuch 1. In Versuch 1 werden durchschnittlich an Tag 5 92 pg/ml gemessen, während in Versuch 2 nur maximal 60 pg/ml (ebenfalls Tag 5) erreicht werden. Der Grund für den geringeren Anstieg ist wohl die Tatsache, dass durch die alterierende Verabreichung nur die Hälfte 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gegeben wurde. Nach Absetzen des Präparates fällt der 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ –Spiegel zwar auf Werte unter dem Ausgangsniveau ab, dies ist jedoch nicht statistisch signifikant und weit weniger deutlich als der Abfall im Serumcalcium- und Phosphat- Spiegel. Ob dies mit der alterierenden Verabreichung zusammenhängt, sollte in weiteren Studien überprüft werden (siehe auch Tabelle 4.6. und 4.24, Ergebnisteil).

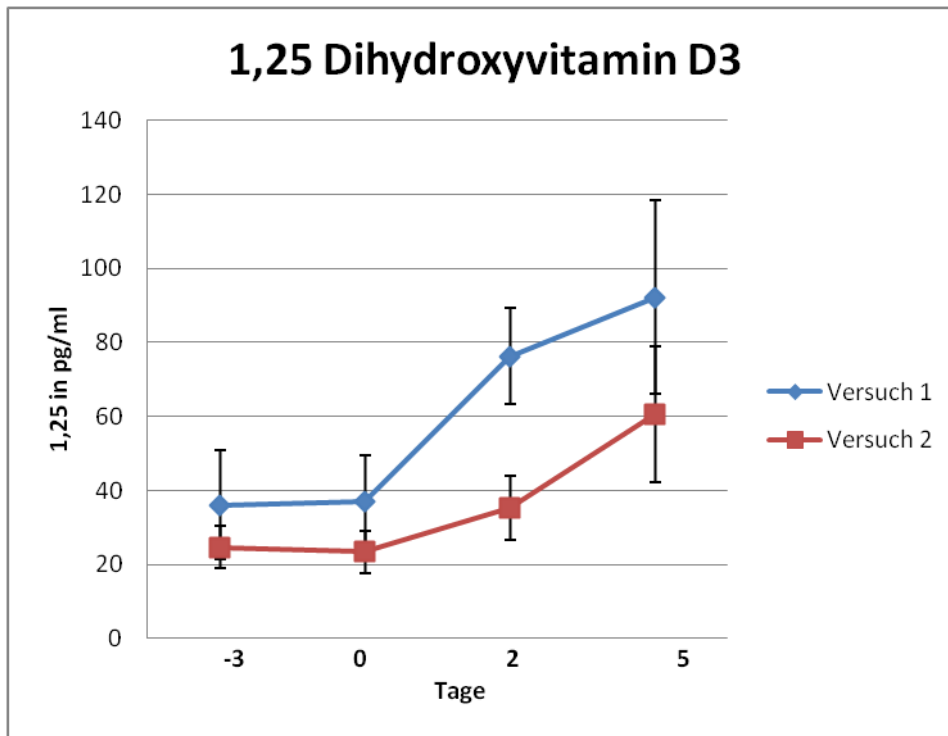


Abbildung 5.4: 1, 25 Dihydroxyvitamin D₃ im Serum, Versuch 1 (n=10) und 2 (n=3) mit Standardabweichung, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm

5.2.2.4. Magnesium im Serum

Der Serummagnesiumspiegel bleibt bei beiden Versuchen zu jedem Zeitpunkt weitgehend im Referenzbereich, der von Kraft und Dürr (2005) mit 0,8 bis 1,3 mmol/l angegeben wird. An Tag 2 des ersten Versuchs werden jedoch, verglichen mit den Ausgangswerten, signifikant niedrigere Werte gemessen. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen, die Hove *et al.* (1983) ermittelt hatten, jedoch nicht mit den Ergebnissen von Kehrlé (2011) und Schlötterer-Wieser (2008), bei denen der Serummagnesiumspiegel durch die Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* nicht beeinflusst wurde. Die Standardabweichung bei den Serummagnesiumwerten ist sehr gering.

5.2.2.5. Natrium und Kalium im Serum

Die Serum Kalium und Natriumwerte bleiben bei beiden Versuchen weitgehend in den von Kraft und Dürr (2005) angegebenen Referenzbereichen. Es ist kein stetiger Anstieg oder Abfall zu beobachten. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen vorangegangener Arbeiten. Bisher ist noch nie ein Effekt einer Verabreichung von Vitamin D oder seiner Metaboliten auf den Natrium- oder Kaliumspiegel nachgewiesen worden.

5.2.3 Milchparameter

Es gibt bisher keine Studien, in denen ein Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* an laktierende Milchkühe verabreicht und der Einfluss auf die Mineralstoffkonzentration in der Milch untersucht wurde. Roux (1979) verabreichte *Solanum glaucophyllum* zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese und untersuchte, ob Veränderungen in Mineralstoffgehalt des Kolostrums der Kühe festzustellen sind. Goumi *et al* (1996) untersuchten den Einfluss eines Vitamin D Präparates auf Mineralstoffzusammensetzung von Ziegenmilch.

5.2.3.1 Calcium in der Milch

Sowohl Roux (1979), der die Mineralstoffzusammensetzung der Kolostrums von, mit *Solanum glaucophyllum* behandelten Kühen untersuchte, als auch Goumi *et al.* (1996) der reife Ziegenmilch untersuchte, nachdem die Tiere vorher ein Vitamin –D Präparat erhalten hatten, konnten eine statistisch signifikante Steigerung des Calciumgehaltes in der Milch feststellen. Auch Hidiroglou (1982), der trächtigen Kühen vor der Geburt ein Vitamin D-haltiges Präparat injizierte, konnte am zweiten und dritten Tag der Laktation einen höheren Calciumgehalt in der Milch nachweisen. In der vorliegenden Studie war jedoch kein Effekt der Verabreichung des Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* auf den Calciumgehalt der Milch festzustellen. Der Milchcalciumgehalt blieb konstant innerhalb der in der Literatur angegeben Referenzwerte. Die Standardabweichung ist in beiden Versuchen mit maximal 0,17 sehr gering, und die statistische Auswertung zeigte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zu den Ausgangswerten. Dies könnte an der, im Vergleich mit den oben genannten Studien, geringeren Dosis des Präparates liegen. Möglich ist auch, dass die Zusammensetzung des Kolostrums von Rindern durch 1,25 Dihydroxvitamin D₃ beeinflussbar ist, die der reifen Milch jedoch nicht.

5.2.3.2 Phosphat in der Milch

Auch der Gehalt an Phosphat in der Milch ließ sich in den oben genannten Studien von Goumi *et al.* (1996) und Roux (1979) statistisch signifikant steigern. Dies ließ sich in der vorliegenden Studie an Kühen in der Hochlaktation jedoch nicht betätigen. Der Gehalt an Phosphat blieb konstant innerhalb der in der Literatur angegebenen Referenzwerte. Auch beim Milchphosphatgehalt war die Standardabweichung mit maximal 0,16 sehr gering, und es waren zu keinem Zeitpunkt signifikant höhere oder niedrigere Werte als die Ausgangswerte von Tag -3 feststellbar. Hidiroglou (1982), der Kühen vor der Geburt ein Vitamin D haltiges Präparat injizierte, konnte ebenfalls keinen Effekt auf den Phosphatgehalt in Kolostrum und Milch feststellen.

5.2.3.3 Magnesium in der Milch

Auch der Magnesiumgehalt in der Milch der Kühe, die ein Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* erhalten haben, blieb unbeeinflusst. Die gemessenen Werte blieben zu jedem Zeitpunkt im Referenzbereich, die Standardabweichung war mit maximal 0,09 gering, und statistisch signifikante Veränderungen waren nicht festzustellen. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von Hidiroglou (1982), jedoch nicht mit den Ergebnissen der Studie von Roux (1979), der eine statistisch signifikante Steigerung des Gehaltes an Magnesium im Kolostrum nach Verabreichung eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* an Kühe im peripartalen Zeitraum feststellte.

5.2.3.4 Natrium und Kalium in der Milch

Der Gehalt der Milch an Natrium und Kalium blieb in der vorliegenden Studie ebenfalls konstant innerhalb der angegebenen Referenzwerte. Statistisch signifikante Unterschiede waren zu keinem Zeitpunkt festzustellen. Allerdings ist auch in der Literatur kein Hinweis darauf zu finden, dass sich die Natrium- oder Kaliumkonzentration in der Milch durch Vitamin D oder seine Metaboliten beeinflussen lässt.

5.2.4 Urinparameter

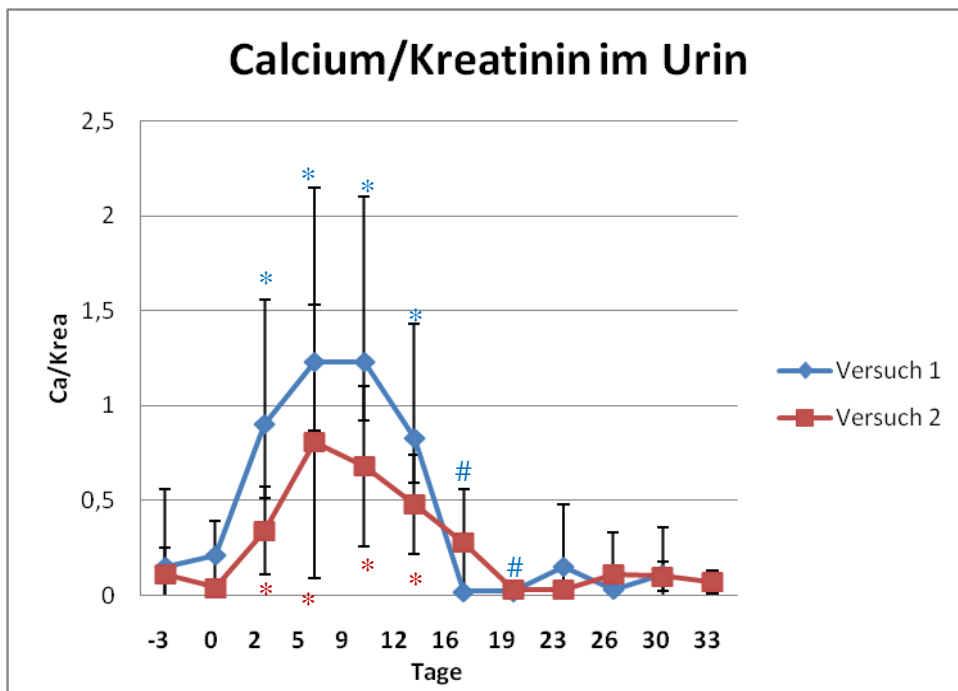
Die Menge des ausgeschiedenen Urins schwankt sehr stark mit der Wasseraufnahme, deshalb ist auch die Verdünnung der ausgeschiedenen Mineralstoffe sehr variabel. Eine Messung pro ausgeschiedener Urineinheit ist deshalb nicht sinnvoll. Da die Ausscheidung von Kreatinin relativ konstant ist, wird die Menge der übrigen mit dem Urin ausgeschiedenen Stoffe üblicherweise auf das Kreatinin bezogen. Jedoch ist der so ermittelte Wert mit einem relativ großen Fehler behaftet, da beide Parameter einzeln gemessen werden und sich Messungenauigkeiten potenzieren können.

5.2.4.1 Calcium im Urin

In Versuch 1 wurde vor Beginn der Verabreichung ein durchschnittliches Calcium/Kreatinin-Verhältnis von 0,15 gemessen und in Versuch 2 von 0,11 (jeweils Tag -3). Während der Verabreichung steigen die Werte in beiden Versuchen kontinuierlich an und erreichten durchschnittlich maximal 1,25 (Tag 5 und 9) in Versuch 1 bzw. 0,81 (Tag 5) in Versuch 2. Statistisch hoch signifikant höhere Werte wurden in beiden Versuchen an den Tagen 2, 5, 9, und 12 gemessen. Der Anstieg bei Versuch 1 fällt jedoch deutlicher aus als bei Versuch 2 (siehe Abbildung 5.4.). Dies ist deshalb interessant, weil der Anstieg im Serum in beiden Versuchen etwa gleich ist. Offenbar reicht die halbierte Dosis von Versuch 2 aus, um den Serumcalciumspiegel deutlich zu erhöhen, während die Calciumexkretion über den Urin deutlich unter der von Versuch 1 bleibt. In weiteren Studien könnte eine Dosierung gefunden werden, die eine Erhöhung des Serumcalciumspiegels auslöst, ohne die Calciumexkretion über den Urin zu sehr zu erhöhen.

Außerdem fällt auf, dass in Versuch 1 die maximale Calciumexkretion auch am letzten Verabreichungstag (Tag 9) gemessen wird, wogegen in Versuch 2 das Maximum an Tag 5 erreicht ist und am letzten Verabreichungstag schon wieder deutlich niedrigere Werte gemessen werden, obwohl die Serumcalciumwerte bei beiden Versuchen bis zum Tag 9 ansteigen. Dies könnte damit zusammenhängen, dass in Versuch 2 auch die 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ –Werte ihr Maximum an Tag 5 und nicht am letzten Verabreichungstag, Tag 9 erreichen.

Nach Absetzen des Präparates fällt auch die Calciumexkretion über den Urin, analog zur Entwicklung im Serum, in beiden Versuchen auf Werte deutlich unter die Ausgangswerte ab (siehe Abbildung 5.4. und Tabellen 4.8. und 4.27., Ergebnisteil). Statistisch signifikant niedriger sind die Urincalciumwerte jedoch nur an den Tagen 16 und 19 von Versuch 1; im Versuch 2 ist der Abfall unter die Ausgangswerte nicht statistisch belegbar. Die Standardabweichung ist, wie häufig bei Urinparametern, mit bis zu 0,92 sehr hoch.



*: statistisch signifikant höhere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

#: statistisch signifikant niedrigere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

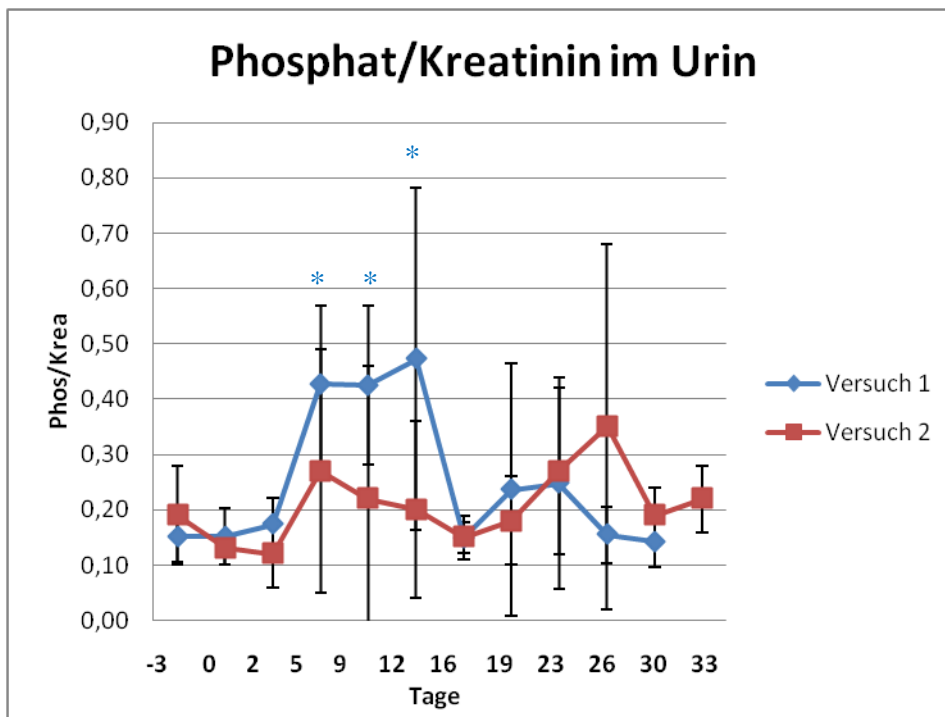
Abbildung 5.5: Calcium/Kreatinin- Verhältnis im Urin mit Standardabweichung, Versuche 1 und 2 von 12 Tieren, Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm

5.2.4.2 Phosphat im Urin

Interessant ist die Phosphatexkretion über den Urin in der vorliegenden Studie. In Versuch 1 sehen wir einen mäßigen aber statistisch hoch signifikanten Anstieg auf etwa das 3-fache der Ausgangswerte, der an Tag 5, 9 und 12 fast gleich bleibt. Jedoch ist kein Abfall der Werte unter das Ausgangsniveau zu sehen. Dies ist

erstaunlich, da ja im Serum die Phosphatwerte gleichzeitig ganz deutlich unter die Ausgangswerte absinken. In Abbildung 5.5. wurden, aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit, in Versuch 1 nur die Werte von 10 Tieren gemittelt. Die beiden weggelassenen Tiere zeigten über den ganzen Versuchszeitraum eine deutlich höhere Phosphatexkretion. Gründe dafür konnten nicht gefunden werden. Die Standardabweichung ist, wie häufig bei Urinwerten, recht hoch.

In Versuch 2, in dem die gleiche Menge eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* nur jeden zweiten Tag verabreicht wurde, ist schließlich auch kein deutlicher Anstieg der Werte mehr zu sehen (Siehe Abbildung 5.5.). Dies deutet darauf hin, dass in Versuch 2 die Dosierung an 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gefunden wurde, die den Serumphosphatgehalt wirksam anhebt ohne gleichzeitig zu einer vermehrten Ausscheidung von Phosphat über die Nieren zu führen. Da die vermehrte Ausscheidung von Calcium und Phosphat über die Nieren mit einem erhöhten Risiko für Verkalkungen einhergeht, ist es sehr erstrebenswert, diese Dosis auch für Calcium zu finden.



*: statistisch signifikant höhere Werte als Tag -3 ($p < 0,05$)

Abbildung 5.6: Phosphat/Kreatinin-Verhältnis im Urin mit Standardabweichung, Versuche 1 (10 Tiere) und 2 (12 Tiere), Präparat Verabreichung Versuch 1: Tag 0 bis 9 je 10 Gramm, Versuch 2: Tag 0, 2, 4, 6 und 8 je 10 Gramm, Tag 10: 5 Gramm Tag 12: 3 Gramm, Tag 14: 1 Gramm, Versuch 1 ohne Tier Nr. 421 und 498

5.2.4.3 Natrium im Urin

Die Natriumexkretion über den Urin ist sehr großen Schwankungen unterworfen. In erster Linie steigt und fällt sie mit der Aufnahme von Kochsalz und gibt Einblick in den Flüssigkeitshaushalt des Körpers. Dies ist auch hier zu sehen, indem der Serumnatriumspiegel sehr konstant bleibt und der Urinnatriumgehalt in beiden Versuchen erheblich schwankt. Dies zeigt sich auch in der sehr hohen Standardabweichung. Allerdings ist kein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte zu beobachten. Aus der Literatur ist auch kein Einfluss von Vitamin D oder seinen Metaboliten auf den Natriumhaushalt bekannt.

5.2.4.4 Kalium im Urin

Der Kalium/Kreatinin- Quotient im Urin bleibt, genau wie im Serum, während beider Versuche relativ konstant. Er ist nur geringgradigen Schwankungen unterworfen und zeigt keinen Auf- oder Abwärtstrend. Dies ist in beiden Versuchen gleich. Die Kaliumexkretion über den Urin steigt und fällt in erster Linie mit dem Kaliumgehalt des Futters. In der vorhergegangenen Studie von Kehrle (2011) ist ebenfalls, genau wie in der Literatur beschrieben, ebenfalls kein Einfluss von Vitamin D oder seiner Metaboliten auf die Kaliumexkretion zu sehen.

5.3 Abschließende Beurteilung

Der in dieser Studie verabreichte Extrakt aus *Solanum glaucophyllum* war in der Lage, den Calcium- und Phosphatspiegel im Serum deutlich anzuheben. Jedoch zeigte sich sowohl bei täglicher Verabreichung, als auch bei Verabreichung an jedem zweiten Tag nach Absetzen des Präparates ein deutliches Absinken der Werte unter die Ausgangswerte und unter die in der Literatur genannten Referenzwerte. Dies ließ sich auch durch das in Versuch 2 angewendete „Ausschleichen“ der Verabreichung nicht verhindern.

Die Urincalciumexkretion zeigte einen ähnlichen Verlauf wie die Serumcalciumwerte. Auch hier stieg bei beiden Versuchen der Gehalt an Calcium zunächst deutlich an und fiel dann, nach Absetzen des Präparates, auf Werte unter dem Ausgangsniveau ab.

Die Phosphatexkretion über den Urin wurde nur durch die tägliche Gabe des Präparates gesteigert, nicht jedoch durch die Gabe in zweitägigem Abstand. Eine gegenüber den Ausgangswerten verminderte Ausscheidung nach Absetzen des Präparates war nicht festzustellen.

Die verabreichte Menge des 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-haltigen Präparates, die den Calcium- und Phosphatspiegel im Serum wirksam erhöht, nicht aber zu einer vermehrten Ausscheidung der Stoffe über den Urin führt, dürfte etwa der Dosierung von Versuch 2 entsprechen oder könnte sogar noch verringert werden.

Ein Einfluss des Präparates aus *Solanum glaucophyllum* auf den Calcium- oder Phosphatgehalt der Milch bei hohem bzw. niedrigem Serumspiegel ließ sich in der vorliegenden Studie nicht bestätigen. Auch die Höhe des Serum- 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-Spiegels schien keinen Einfluss auf die Mineralstoffzusammensetzung der Milch zu haben.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig der Effekt einer zehntägigen Verabreichung einer kleinen Menge eines Vitamin-D-Metabolit-haltigen Extraktes aus *Solanum glaucophyllum* auf die Mineralstoffkonzentrationen in Blut und Urin laktierender Kühe, die das Plateau ihrer Milchleistung erreicht hatten untersucht. Erstmals wurde auch die Mineralstoffzusammensetzung der reifen Milch unter dem Einfluss des pflanzlichen Vitamin-D-Metaboliten 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gemessen.

Von 12 laktierenden Milchkühen wurden Blut-, Urin- und Milchproben in zwei Versuchen über einen Zeitraum von 33 bzw. 36 Tagen genommen und auf ihre Mineralstoffzusammensetzung hin untersucht.

Die Ergebnisse von Versuch 1 zeigen, dass die zehntägige Gabe eines Extraktes aus *Solanum glaucophyllum*, der 25 µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ pro Tier und Tag enthält, den Serumcalcium- und Serumphosphatspiegel signifikant anhebt. Auch die Exkretion der beiden Stoffe über den Urin war gegenüber den Ausgangswerten signifikant erhöht. Beim Absetzen des Präparates nach zehntägiger Verabreichung zeigte sich im Serum ein signifikanter Abfall der Werte unter die Ausgangswerte und unter die in der Literatur angegebenen Referenzwerte.

Auch in Versuch 2, in dem den selben Tieren über zehn Tage hinweg durch Verabreichung an jedem zweiten Tag lediglich die halbe Menge 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ gegeben wurde, zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Serumcalcium- und Serumphosphatwerte. Die immer noch signifikant erhöhte Calciumexkretion über den Urin war jedoch weniger deutlich ausgeprägt, und es wurde nicht signifikant mehr Phosphat als vor der Verabreichung ausgeschieden. Um den in Versuch 1 gemessenen Abfall der Serumcalcium- und Serumphosphatwerte unter die Ausgangswerte zu vermeiden, wurde in Versuch 2 nach der zehntägigen Verabreichung des Pflanzenextraktes noch über weitere fünf Tage eine sich langsam verringernde Menge des 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ haltigen Präparates gegeben. Trotz dieses „Ausschleichens“ sanken auch in Versuch 2 die Serumcalcium- und Serumphosphatwerte noch signifikant unter die Ausgangswerte ab. Der Serumspiegel des Vitamin D Metaboliten 1,25 Dihydroxyvitamin D₃, der im Versuch 1 auf mehr als das Doppelte angestiegen war, erhöhte sich im zweiten Versuch in geringerem Maß.

Die Mineralstoffkonzentration in der Milch der Tiere ließ sich in beiden Versuchen durch die verabreichte geringe Dosis des Vitamin-D-Metabolit-haltigen Präparates nicht beeinflussen. Ob dies an der niedrigen Dosis lag, oder ob der Calcium- und Phosphatgehalt der reifen Milch, anders als der des Kolostrums, durch „aktives Vitamin D“ nicht zu beeinflussen ist könnte in weiteren Studien geklärt werden.

Die in Versuch 2 eingesetzte Menge des 1,25 Dihydroxyvitamin D₃-haltigen Präparates aus *Solanum glaucophyllum* scheint geeignet, den Serumcalcium- und Serumphosphat Spiegel bei einer längeren Verabreichung, zum Beispiel im Rahmen der Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese, wirksam zu erhöhen. Ob sich die Menge des Pflanzenextraktes dabei sogar noch reduzieren lässt müsste in weiteren Studien geklärt werden. Auch ein langsames „Ausschleichen“ bei der Verabreichung des Vitamin D Metaboliten, das ein Absinken der Serumcalcium- und Serumphosphatwerte unter die Ausgangswerte verhindert, müsste noch weiter untersucht werden.

7 Summary

Investigations on the effect of an herbal vitamin D metabolite in lactating dairy cows.

In the present study on lactating dairy cows the effect of a ten day application of small amounts of an extract containing a Vitamin D metabolite of *Solanum glaucophyllum* was investigated in the mineral composition of blood and urine. For the first time, the mature milk of cows on herbal vitamin D metabolite regimen was studied on its mineral composition.

Blood, urine and milk samples were collected from 12 lactating dairy cows in two trials over a period of 33 and 36 days and examined on their mineral composition.

The results of trial 1 show that after a ten day application of a *Solanum glaucophyllum* extract containing 25µg 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ per animal per day, the calcium and phosphorus content in serum increases significantly. Furthermore, the excretion of these two minerals in urine was significantly higher than it had been before the treatment. When the medication was discontinued after ten days the calcium and phosphorus content in blood and urine decreased significantly below the concentration before the application and also below the reference values found in literature.

In trial 2 the same amount of 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ was given, but only every second day. Therefore the total amount given after ten days was half that given in trial 1. Trial 2 showed never the less a significant rise of the calcium and phosphorus content in the cow`s blood. The rise of the excretion of calcium in the urine, while significant, was not as high as in study 1. There was no significant rise of the phosphorus excretion in the cow`s urine in study 2. To avoid the decrease of the calcium and phosphorus concentration in blood shown in trial 1, in trial 2 the 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ was administered for five additional days in a decreasing dosage. Despite this “tapering” of the medication, in study 2, like in study 1, the calcium and phosphorus content of the serum of the animals decreased significantly below the amount measured before the application.

The concentration of the vitamin D metabolite 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in the serum had more than doubled in trial 1 when the plant extract was administered. Trial 2 showed a smaller increase of 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in serum.

The mineral composition of the milk was not influenced by the small amount of the vitamin D metabolite given in the two trials. Whether this is due to the very small portion given or it is impossible to affect the calcium and phosphorus content of mature dairy cow milk could be the subject of further studies.

The amount of 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ used in trial 2 appears to be suitable to raise the calcium and phosphorus content of the serum over a longer treatment duration, e.g. for the prophylaxis of periparturient paresis. Further studies could investigate if the dosage could be reduced further. Additional research could also examine the “tapering” of the vitamin D metabolite treatment that avoids the decrease of the serum calcium and phosphorus content.

8 Literaturverzeichnis

- Aburjai, T., Al-Khalil, S. & Abuirjeie, M. (1998) Vitamin D3 and its metabolites in tomato, potato, egg plant and zucchini leaves. *Phytochemistry*, **49**, 2497-2499.
- Aguirre, J.I., Gomar, M.S., Igal, S., Quiroga, M.A., Portiansky, E.L. & Gimeno, E.J. (2005) Bone changes caused by experimental *Solanum malacoxylon* poisoning in rabbits. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **25**, 34-38.
- Altthaler, T.A. (1995) Vergleichende Untersuchungen über das Vorkommen von Gefäß- und Organverkalkungen (Kalzinose) bei Schlachtkühen in Südbayern. *Diss. med. vet. Institut für Tierpathologie*. LMU, München.
- Anderson, P.H., Turner, A.G. & Morris, H.A. (2012) Vitamin D actions to regulate calcium and skeletal homeostasis. *Clinical Biochemistry*, **45**, 880-886.
- Arie, B. (2008) Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying laying birds. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **151**, 477-490.
- Avioli, L.V. (1998) The role of calcitonin in the prevention of osteoporosis. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*, **27**, 411-418.
- Bachmann, H., Autzen, S., Frey, U., Wehr, U., Rambeck, W., McCormack, H. & Whitehead, C. (2012) The efficacy of a standardized product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. *British Poultry Science (accepted)*.

- Barlet, J.P. & Davicco, M.J. (1992) 1α -Hydroxycholecalciferol for the treatment of the downer cow syndrome. *Journal of Dairy Science*, **75**, 1253-1256.
- Barlet, J.P. & Ross, R. (1984) The influence of calcium intake on plasma calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol concentrations in parturient cows. *British Veterinary Journal*, **140**, 392-397.
- Barros, S.S. & Gimeno, E.J. (2000) Cell differentiation and bone protein synthesis in the lungs of sheep with spontaneous calcinosis. *Journal of Comparative Pathology*, **123**, 270-277.
- Barros, S.S.D., Driemeier, D., Santos, M.N.D. & Guerrero, J.A.M. (1992) Clinical course and reversibility of enzootic calcinosis caused by *Nierembergia veitchii* in sheep. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **12**, 5-10.
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, L. (2011) Gruber Tabelle zur Fütterung der Milchkühe, Zuchtrinder, Schafe, Ziegen. *Tierernährung*, München.
- Bjorn, L.O. & Wang, T. (2001) Is provitamin D a UV-B receptor in plants? *Plant Ecology*, **154**, 1-8.
- Boland, R., Skliar, M., Curino, A. & Milanesi, L. (2003) Vitamin D compounds in plants. *Plant Science*, **164**, 357-369.
- Boland, R.L. (1986) Plants as a source of vitamin D₃ metabolites. *Nutrition Reviews*, **44**, 1-8.

- 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**, 333-338.
- Braun, U., Diener, M., Camenzind, D., Flockinger, M., Thoma, R. (2000) Enzootic calcosinosis in goats caused by golden oat grass (*Trisetum flavescens*). *Veterinary Record*, **146**, 161-162.
- Brenner, R.V., Shabahang, M., Schumaker, L.M., Nauta, R.J., Uskokovic, M.R., Evans, S.R.T. & Buras, R.R. (1995) The antiproliferative effect of vitamin D analogs on MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Letters*, **92**, 77-82.
- Buchelt, K.D. (1986) Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärlähmung mittels Verfütterung von *Trisetum-flaverescens*-Cobs. *Diss. med. vet. Tierärztliche Fakultät*. LMU, München.
- Burlini, N., Iriti, M., Daggetti, A., Faoro, F., Ruggiero, A. & Bernasconi, S. (2011) Benzothiadiazole (BTH) activates sterol pathway and affects vitamin D(3) metabolism in *Solanum malacoxylon* cell cultures. *Plant Cell Reports*, **30**, 2131-2141.
- Casco, C., Ferraro, C., Ladizesky, M., Man, Z., Ghiringhelli, W., Cabrejas, M. & Mautalen, C.A. (1977) Effects of *Solanum-malacoxylon* in hypoparathyroidism. In Norman, A.W., Schäfer, K., Coburn, J.W., De Luca, H.F., Fraser, D., Grigoleit, H.G., D.V., H. (eds) *Vitamin D. Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism*. Walter de Gruyter, Berlin, pp. 759-761.

- 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. *Poultry Science*, **83**, 406-413.
- Chennaiah, S., Qadri, S.S.Y.H., Rao, S.V.R., Shyamsunder, G. & Raghuramulu, N. (2004) *Cestrum diurnum* leaf as a source of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ improves egg shell thickness. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **89–90**, 589-594.
- Chennaiah, S., Qadri, S.S.Y.H., Reddy, C.V.K., Rao, S.V.R., Shyamsunder, G. & Raghuramulu, N. (2007) Incorporation of *Cestrum diurnum* leaf improves intestinal Ca transport in broilers. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **103**, 645-650.
- Curino, A., Milanesi, L., Benassati, S., Skliar, M. & Boland, R. (2001) Effect of culture conditions on the synthesis of vitamin D₃ metabolites in *Solanum glaucophyllum* grown in vitro. *Phytochemistry*, **58**, 81-89.
- Curino, A., Skliar, M. & Boland, R. (1998) Identification of 7-dehydrocholesterol, vitamin D-3, 25(OH)-vitamin D-3 and 1,25(OH)₂-vitamin D-3 in *Solanum glaucophyllum* cultures grown in absence of light. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, **1425**, 485-492.
- Dämmrich, K., Dirksen, G. & Plank, P. (1970) Enzootic "calcinosis" in cattle. 3. Skeletal changes. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **77**, 342-346.
- Dämmrich, K., Döbereiner, J., Done, S.H. & Tokarnia, C.H. (1975) Skelettveränderungen nach Vergiftungen mit *Solanum malacoxylon* bei Rindern. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, **22**, 313-329.

- DeBoland, A.R., Skliar, M.I., Boland, R.L., Carrillo, B.J. & Ruksan, B. (1976) A method for the isolation of the active principle of *Solanum malacoxylon*. *Analytical Biochemistry*, **75**, 308-313.
- DeGaris, P.J. & Lean, I.J. (2008) Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, **176**, 58-69.
- DGE, D.G.f.E. (2012) Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr Vitamin D. In Ernährung, D.G.f. (ed). Neuer Umschau Buchverlag, Bonn.
- Dinev, I. (2012) Clinical and morphological investigations on the incidence of forms of rickets and their association with other pathological states in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, **92**, 273-277.
- Dirksen, G., Kragenings, G., Hänichen, T. & D., E.-E. (1981a) *Trisetum flavescens* (L., P.B.): calcinogenetic activity of the plant after artificial (green)- drying and preparation of cobs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **88**, 263-265.
- Dirksen, G., Plank, P., Spiess, A., Hanichen, T. & Dammrich, K. (1970) Enzootic calcinosis in cattle. I. Clinical findings and studies. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **77**, 321-337.
- Dirksen, G., Sterr, K. & Hermanns, W. (2003) Enzootische Kalzinose beim Schaf nach Verzehr von Goldhafer (*Trisetum flavescens* L., P. B.). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **110**, 475-483.

Dirksen, G., Wolf, M., Gebert, U. & Kaemmerer, F.J. (1981b) *Trisetum flavescens*: demonstration of an active water-soluble substance. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe A*, **28**, 429-435.

Dixon, J.M. (1995) *Trisetum-flavescens* (L) beauv (T-pratense Pers, Avena-flavescens L). *Journal of Ecology*, **83**, 895-909.

Ebrahim, G.J. (1979) The problems of undernutrition. In Jarrett, R.J. (ed) *Nutrition and Disease*. University Park Press, Baltimore.

Edwards, H.M. (1989) The effect of dietary cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of disulfiram. *The Journal of Nutrition*, **119**, 647-652.

Eyles, D., Burne, T. & McGrath, J. (2011) Vitamin D in fetal brain development. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **22**, 629-636.

Fleischer, P., Metzner, M., Beyerbach, M., Hoedemaker, M. & Klee, W. (2001) The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **84**, 2025-2035.

Fontana, P.A., Zanuzzi, C.N., Chinchilla, L.A., Barbeito, C.G., Gimeno, E.J. & Portiansky, E.L. (2009) Enzootic calcinosis: Effects on organs and cells of the immune system in experimentally intoxicated rabbits. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **128**, 308-309.

- Foote, R.H. (1981) Factors affecting gestation length in dairy cattle. *Theriogenology*, **15**, 553-559.
- Franz, S., Gasteiner, J., Schilcher, F. & Baumgartner, W. (2007) Use of ultrasonography to detect calcifications in cattle and sheep fed *Trisetum flavescens* silage. *Veterinary Record*, **161**, 751-754.
- Fricke, R. (1985) Investigations on the prevention of bovine parturient paresis by *Solanum malacoxylon*. *Diss. med. vet. Tierärztliche Fakultät. LMU, München*.
- Frost, T.J., Roland, D.A. & Untawale, G.G. (1990) Influence of vitamin D₃, 1 α -Hydroxyvitamin D₃, and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibia strength, and various production parameters in commercial laying hens. *Poultry Science*, **69**, 2008-2016.
- Goff, J.P. (2008) The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, **176**, 50-57.
- Goff, J.P. & Horst, R.L. (1990) Effect of subcutaneously released 24F-1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on incidence of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **73**, 406-412.
- Goff, J.P., Horst, R.L., Mueller, F.J., Miller, J.K., Kiess, G.A. & Dowlen, H.H. (1991) Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-Dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *Journal of Dairy Science*, **74**, 3863-3871.

- Goumi, M.B., Davicco, M.J., Coxam, V., De La Farge, F. & Barlet, J.P. (1996) Effect of 1 α -hydroxycholecalciferol on calcium and phosphorus concentration in goat milk. *Small Ruminant Research*, **21**, 45-49.
- Gram, J., Junker, P., Nielsen, H.K. & Bollerslev, J. (1996) Dose-response effect of short-term calcitriol treatment on bone and mineral metabolism in normal males. *Bone*, **18**, 539-544.
- Guedes, K.M.R., Colodel, E.M., Castro, M.B., Souza, M.A., Arruda, L.P., Dianezi, D.M., Borges, J.R.J. & Riet-Correa, F. (2011) Calcinose enzoótica em ruminantes no Brasil Central. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **31**, 643-648.
- Gufler, H., Bago, Z., Speckbacher, G. & Baumgartner, W. (1999) Calcinosis in goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **106**, 419-424.
- Hänichen, T. & Hermanns, W. (1990) The question of reversibility of tissue calcification in enzootic calcinosis of cattle and in experimental hypervitaminosis D. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **97**, 479-482.
- Heinritzi, K., Kragenings, G. & Hänichen, T. (1977) Untersuchungen über die kalzinogene Aktivität von siliertem Goldhafer (*Trisetum flavescens* [L.] [P. B.]). *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde*, **39**, 139-145.
- Hibbs, J.W. & Pouden, W.D. (1955) Studies on milk fever in dairy cows. IV. Prevention by short-time, prepartum feeding of massive doses of Vitamin D. *Journal of Dairy Science*, **38**, 65-72.

- Hidiroglou, M. & Proulx, J.G. (1982) Factors affecting the calcium, magnesium and phosphorus-content of beef cow milk. *Canadian Journal of Comparative Medicine-Revue Canadienne De Medecine Comparee*, **46**, 212-214.
- Horst, R.L., Goff, J.P., Gill, S., Dallorso, M.E. & Pawlak, E. (2003) Using *Solanum glaucophyllum* as a source of 1,25-dihydroxyvitamin D to prevent hypocalcemia in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **44**, 1-1.
- Horst, R.L., Goff, J.P., Reinhardt, T.A. & Buxton, D.R. (1997) Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, **80**, 1269-1280.
- Horst, R.L. & Littledike, E.T. (1982) Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **73**, 485-489.
- Hove, K., Horst, R.L. & Littledike, E.T. (1983) Effects of 1 α -Hydroxyvitamin D₃, 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, 1,24,25-Trihydroxyvitamin D₃, and 1,25,26-Trihydroxyvitamin D₃ on mineral metabolism and 1,25-Dihydroxyvitamin D concentrations in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **66**, 59-66.
- Hymøller, J. (2010) Vitamin D₃ synthesis in the entire skin surface of dairy cows despite hair coverage. *Journal of Dairy Science*, **93**, 2025-2029.
- Ikeda, K. & Ogata, E. (2000) Modulation of bone remodeling by active vitamin D: its role in the treatment of osteoporosis. *Mechanisms of Ageing and Development*, **116**, 103-111.

- Iriti, M., Quaglino, F., Maffi, D., Casati, P., Bianco, P.A. & Faoro, F. (2008) *Solanum malacoxylon*, a new natural host of stolbur phytoplasma. *Journal of Phytopathology*, **156**, 8-14.
- Iwersen, M., Falkenberg, U., Voigtsberger, R., Forderung, D. & Heuwieser, W. (2009) Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **92**, 2618-2624.
- Jenny, C. (2008) Rickets or abuse? *Pediatric Radiology*, **38**, 1219-1220.
- Jones, G. (2008) Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **88**, 582-586.
- Jorde, R., Sneve, M., Figenschau, Y., Svartberg, J. & Waterloo, K. (2009) Effects of vitamin d supplementation on symptoms of depression in obese subjects: Randomized double blind trial. *European Psychiatry*, **24**, 318.
- Joyner, C.J., Peddie, M.J. & Taylor, T.G. (1987) The effect of age on egg production in the domestic hen. *General and Comparative Endocrinology*, **65**, 331-336.
- Kehrle, S. (2011) Einsatz verschiedener Präparationen eines Extraktes von *Solanum glaucophyllum* zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes. *Diss. med. vet. Institut für Tierernährung und Diätetik*. LMU, München.
- Knapp, S. (2002) The Solanaceae as drugs and medicine: A natural history of the potato family In learning, F.-t.s.f.o. (ed) *The Natural History Museum*.

Kraft & Dürr (eds) (2005) *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag, Stuttgart.

Krappweis, J., Rentsch, A., Schwarz, U.I., Krobot, K.J. & Kirch, W. (1999) Outpatient costs of osteoporosis in a national health insurance population. *Clinical Therapeutics*, **21**, 2001-2014.

Kunz, W. (1977) Influence of Solanum malacoxylon (Sendtner) on serum calcium, phosphorus and magnesium levels in cattle after parenteral and oral application. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.*, **15**, 69-72.

Kunz, W. & Hänichen, T. (1981) Solanum malacoxylon: studies of tolerance of doses recommended for the prophylaxis of parturient paresis. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.*, **94**, 421-424.

Lau, K.H.W. & Baylink, D.J. (1999) Vitamin D therapy of osteoporosis: Plain vitamin D therapy versus active vitamin D analog (D-hormone) therapy. *Calcified Tissue International*, **65**, 295-306.

Libiseller, R., Glawischnig, E., Köhler, H. & Swoboda, R. (1976) Zur Kalzinose der Rinder in Österreich. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, **23**, 1-30.

Massheimer, V., Boland, R. & De Boland, A.R. (1994) Rapid 1,25(OH)₂-vitamin D₃ stimulation of calcium uptake by rat intestinal cells involves a dihydropyridine-sensitive cAMP-dependent pathway. *Cellular Signalling*, **6**, 299-304.

Mathieu, C., van Etten, E., Decallonne, B., Guilietti, A., Gysemans, C., Bouillon, R. & Overbergh, L. (2004) Vitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ as modulators

in the immune system. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **89–90**, 449-452.

McGuirk, S.M. & Semrad, S.D. (2005) Toxicologic emergencies in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **21**, 729-749.

Mello, J.R.B. (2003) Calcinosis—calcinogenic plants. *Toxicon*, **41**, 1-12.

Mello, J.R.B. & Habermehl, G. (1991) The influence of UV-Light and climatic conditions (sunshine rate, irradiation and temperature) on the calcinogenic activity of *Trisetum-flavescens* and *nierembergia-veichii*. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **98**, 462-465.

Mello, J.R.B.D. & Habermehl, G. (1995) Vitamin D-3-like activity in four calcinogenic plants. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **15**, 73-78.

Metzner, M. & Mann, S. (2011) Zur Problematik von Verletzungen bei der oralen Verabreichung mittels Pilleneingeber. In Landestierärztekammer, B. (ed) 25. *Bayerische Tierärztetage*, Nürnberg.

Morris, K., Jenkins, S. & Simonite, J. (1977) The effect on egg-shell thickness of the inclusion of the calcinogenic plant *Solanum malacoxylon* in the diet of laying hens. *Veterinary Record*, **101**, 502-504.

Morris, K.M.L. & Levack, V.M. (1982) Evidence for aqueous soluble vitamin D-like substances in the calcinogenic plant, *Trisetum flavescens*. *Life Sciences*, **30**, 1255-1262.

- Muir, L.A., Hibbs, J.W. & Conrad, H.R. (1968) Effect of vitamin D on the ability of cows to mobilize blood calcium. *Journal of Dairy Science*, **51**, 1046-1050.
- Neumann, F., Nobel, T.A. & Klopfer, U. (1973) Calcinosis in goats. *Journal of Comparative Pathology*, **83**, 343-350.
- Norman, A.W. (2008) From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **88**, 491-499.
- Norrdin, R.W., Debarros, C.S.L., Queille, M.L., Carre, M. & Miravet, L. (1979) Acute effects of Solanum-malcoxydon on bone-formation rates in growing-rats. *Calcified Tissue International*, **28**, 239-243.
- Oetzel, G.R. (2011) Diseases of dairy animals | Non-infectious diseases: milk fever. In Editor-in-Chief: John, W.F. (ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 239-245.
- Parkinson, G., Thorp, B.H., Azuolas, J. & Vaiano, S. (1996) Sequential studies of endochondral ossification and serum 1,25-dihydroxycholecalciferol in broiler chickens between one and 21 days of age. *Research in Veterinary Science*, **60**, 173-178.
- Peterlik, M., Regal, D.-S. & Köhler, H. (1977) Evidence for a 1,25-dihydroxyvitamin D-like activity in *Trisetum flavescens*: Possible cause for calcinosis in grazing animals. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **77**, 775-781.

- Prosser, Guo, YuDing, Jia, Zongchao, Jones & Glenville (2006) Structural motif-based homology modeling of CYP27A1 and site-directed mutational analyses affecting vitamin D hydroxylation. *Biophysical Journal*, **90**, 3389-3409.
- Prosser, D. & Jones, G. (2004) Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends in Biochemical Sciences*, **29**, 664-673.
- Rambeck, W., Oesterhelt, W., Vecchi, M. & Zucker, H. (1979) Occurrence of cholecalciferol in the calcinogenic plant *Trisetum flavescens*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **87**, 743-749.
- Rambeck, W.A. (1997) Vitamin D. In Biesalski, H.K., Schrenzenmeir, J., Weber, P., Weiß, H.E. (eds) *Vitamine Physiologie, Pathophysiologie, Therapie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Rambeck, W.A., Weiser, H. & Zucker, H. (1987) A vitamin-D3 steroid-hormone in the calcinogenic grass *Trisetum flavescens*. *Zeitschrift für Naturforschung C-a Journal of Biosciences*, **42**, 430-434.
- Rambeck, W.A. & Zucker, H. (1985) Synergistic effects of 1,25(OH)₂D₃ and 24,25(OH)₂D₃ on duodenal CaBP in rachitic chicks and on eggshell weight in Japanese quails. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **126**, 799-804.
- Reinhardt, T.A., Lippolis, J.D., McCluskey, B.J., Goff, J.P. & Horst, R.L. (2011) Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, **188**, 122-124.

- Richart, T., Li, Y. & Staessen, J.A. (2007) Renal versus extrarenal activation of Vitamin D in relation to atherosclerosis, arterial stiffening, and hypertension. *American Journal of Hypertension*, **20**, 1007-1015.
- Riet-Correa, F., Mendez, M.C., Schild, A.L. & Petiz, C.A. (1993) Enzootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **13**, 21-24.
- Riet-Correa, F., Mendez, M.D.C., Schild, A.L., Santos, E.C.D. & Scarsi, R.M. (1981) Experiments in Rabbits suggest *Nierembergia-veichii* as a cause of enzootic calcinosis in sheep of Rio-Grande-Do-Sul Brasil *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, **16**, 726-732.
- Rissi, D.R., Brown, C.C. & Barros, C.S.L. (2009) Chronic and acute clinical manifestations associated with systemic mineralization caused by ingestion of *Nierembergia veitchii* in sheep in southern Brazil. *Small Ruminant Research*, **87**, 102-104.
- Robinson, C.J. (1974) The physiology of parathyroid hormone. *Clinics in Endocrinology and Metabolism*, **3**, 389-417.
- Rosati, F., Danza, G., Guarna, A., Cini, N., Racchi, M.L. & Serio, M. (2003) New evidence of similarity between human and plant steroid metabolism: 5 alpha-reductase activity in *Solanum malacoxylon*. *Endocrinology*, **144**, 220-229.
- Roux, R., Davicco, M.-J., Carrillo, 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**, 91-101.

Scheiber, L.B. & Torregrosa, L. (1998) Evaluation and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **27**, 245-261.

Schlötterer-Wieser, S. (2008) Untersuchungen zum Einsatz eines Vitamin D-haltigen Pflanzenprodukts von *Solanum glaucophyllum* zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes *Diss. med. vet. Institut für Tierernährung und Diätetik* LMU, München.

Sharif, M. (2009) A brief history of vitamin D and cancer prevention. *Annals of Epidemiology*, **19**, 79-83.

Simon, U. (1980) Golden oat grass and enzootic calcinosis of cattle in the alpine region. *Europ. Grass Fed.*, 7113-7124.

Skliar, M., Curino, A., Milanesi, L., Benassati, S. & Boland, R. (2000) *Nicotiana glauca*: another plant species containing vitamin D3 metabolites. *Plant Science*, **156**, 193-199.

Tokarnia, C.H., Döbereiner, J. & Peixoto, P.V. (2002) Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon*, **40**, 1635-1660.

Töpel, A. (ed) (2004) *Chemie und Physik der Milch*. Behr, B., Hamburg.

Vega, M.A. & Boland, R.L. (1986) Vitamin D-3 induces the de novo synthesis of calmodulin in *Phaseolus vulgaris* root segments growing in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **881**, 364-374.

- Von Herrath, D., Schaefer, K., Kraft, D. & Offermann, G. (1977) Effect of Solanum-malacoxylon on calcium metabolism in experimental uremia and in uremic patients. *Calcified Tissue Research*, **22**, 534-437.
- von Rosenberg, S., Wehr, U. & Bachmann, H. (2007) Effect of vitamin D-containing plant extracts on osteoporotic bone. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **103**, 596-600.
- Waldenstedt, L. (2006) Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers: A review. *Animal Feed Science and Technology*, **126**, 291-307.
- Walser, K., Bostedt, H. & Berchtold, M. (eds) (1990) *Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere*. Enke, Stuttgart.
- Wasserman, R.H., Corradino, R.A. & Krook, L.P. (1975) *Cestrum diurnum*: A domestic plant with 1,25-dihydroxycholecalciferol-like activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **62**, 85-91.
- Weissenberg, M., Levy, A. & Wasserman, R.H. (1989) Distribution of calcitriol activity in *Solanum glaucophyllum* plants and cell cultures. *Phytochemistry*, **28**, 795-798.
- Whitehead, C.C. (1995) The role of vitamin D metabolites in the prevention of tibial dyschondroplasia. *Animal Feed Science and Technology*, **53**, 205-210.

- Wilkins, M.R., Oberheide, I., Schröder, B., Azem, E., Steinberg, W. & Breves, G. (2012) Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **95**, 151-164.
- Woodard, J.C., Berra, G., Ruksan, B., Carrillo, B. & Erdos, G. (1993) Toxic effects of solanum malacoxylon on sheep bone. *Bone*, **14**, 787-797.
- Zhu, J. & DeLuca, H. (2012) Vitamin D 25-hydroxylase – Four decades of searching, are we there yet? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **523**, 30-36.
- Zucker, H., Stark, H. & Rambeck, W.A. (1980) Light-dependent synthesis of cholecalciferol in a green plant. *Nature*, **283**, 68-69.

9 Danksagung

Zuallererst bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. E. Kienzle für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Rambeck, ohne dessen fachliche sowie menschliche Unterstützung diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre. Vielen Dank für Ihre ständige Erreichbarkeit, Ihr großes Fachwissen und Ihre unermüdliche Unterstützung bei allen auftretenden Fragestellungen.

Bei Herrn Prof. Förster und Herrn PD Dr. Scholz möchte ich mich für die Überlassung der Versuchstiere herzlich bedanken. Allen Mitarbeitern des Lehr- und Versuchsgutes in Oberschleißheim gilt mein herzlicher Dank für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche. Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. Nüske, Herrn Böser, Herrn Wagner, Herrn Dierig, Herrn Lange, Herrn Schlickerrieder, Herrn Bätz und Frau Dr. Kremer für die großzügige Hilfe bei der Entnahme der Proben und Erhebung der tierspezifischen Daten.

Ich bedanke mich bei der Firma Herbonis Animal Health Ltd., Basel, Schweiz für die Bereitstellung der Testsubstanz sowie die umfangreiche Zusammenarbeit und insbesondere bei Herrn Dr. H. Bachmann für die wertvollen fachlichen Anregungen.

Ein herzliches Dankeschön geht an alle Mitarbeiter des Lehrstuhls für Tierernährung für die freundliche Hilfe bei der Untersuchung der Proben. Ein besonderer Dank gilt Herrn Christian Overdiek, Frau Elke Kleiner, Herrn Werner Hesselbach sowie Herrn Fabian Wendel. Ohne Eure Unterstützung hätte die Laborarbeit wesentlich mehr Zeit in Anspruch genommen und viel weniger Freude bereitet. Bei Herrn Steffen Mitschke, Adrian Frille, Frau Dr. Julia Fritz, Elisabeth Lauterbach, Imke Schöpfer, Kerstin Weiner und Thomas Nolte bedanke ich mich herzlich für die Hilfe bei der Entnahme der Proben.

Meiner langjährigen Freundin Martina Koblbauer danke ich für ihre Hilfe bei der Kommasetzung und ihr stets offenes Ohr während meiner gesamten Ausbildung.

Bei meinem Freund Tobias Lohner bedanke ich mich für die Geduld und den Optimismus mit dem er meine Dissertation begleitet hat.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meinem Vater, meiner Mutter, meiner Schwester und meiner lieben Oma für die langjährige und liebevolle Unterstützung während meines Studiums und meiner Dissertation. Ohne Euch wäre das alles nicht möglich gewesen.

