

Aus dem Department für Veterinärwissenschaften der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität München

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

Einsatz verschiedener Präparationen eines Extraktes von *Solanum glaucophyllum* zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes

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

von
Susanne Kehrle
aus
Biberach/Riß

München 2011

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Kienzle

Korreferent: Univ.- Prof. Dr. Mansfeld

Tag der Promotion: 12. Februar 2011

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 HYPOCALCÄMISCHE GEBÄRPAUSE DES RINDES.....	3
2.1.1 Definition, Inzidenz und Prädisposition.....	3
2.1.2 Symptomatik, Diagnostik und Therapie.....	4
2.1.3 Pathogenese.....	6
2.1.4 Wirtschaftliche Bedeutung.....	7
2.1.5 Prophylaktische Maßnahmen	8
2.1.5.1 Calciumarme Fütterung ante partum	9
2.1.5.2 Fütterung von Zeolite	9
2.1.5.3 Anionenreiche Fütterung in der Trockenstehzeit (DCAB-Konzept).....	9
2.1.5.4 Calciumsupplementierung im peripartalen Zeitraum	11
2.1.5.5 Injektion von Vitamin D ₃	12
2.2 DER WIRKSTOFF VITAMIN D.....	13
2.2.1 Bildung und Metabolisierung.....	13
2.2.2 Wirkung.....	14
2.2.2.1 Calcium- Absorption aus dem Darm.....	14
2.2.2.2 Calciumresorption in der Niere	16
2.2.3 Calcium- und Phosphorhomöostase	16
2.3 BISHERIGE STUDIEN ZUM EINSATZ SYNTHETISCHER VITAMIN D ₃ METABOLITEN .	18
2.4 CALCINOGENE PFLANZEN	25
2.4.1 <i>Trisetum flavescens</i>	25
2.4.2 <i>Solanum glaucophyllum</i>	26
2.5 KALZINOSE	27
2.6 EINSATZ VON CALCINOGENEN PFLANZEN IN DER MILCHFIEBERPROPHYLAXE.....	29
2.7 ANWENDUNG VON RETARDFORMEN IN BOLUSFORM BEIM RIND	32

3	MATERIAL UND METHODEN	35
3.1	STUDIENZIEL.....	35
3.2	VERSUCHSTIERE	35
3.3	TESTSUBSTANZ	37
3.4	DOSIERUNG.....	37
3.5	APPLIKATION	39
3.6	VERSUCHSPLAN	39
3.7	PROBENENTNAHME	42
3.7.1	Blutprobenentnahme	43
3.7.2	Gewinnung von Spontanurin.....	43
3.8	UNTERSUCHTE PARAMETER	43
3.8.1	Serum	44
3.8.2	Urin	46
3.8.3	Futteranalyse	47
3.8.3.1	Trockensubstanz	47
3.8.3.2	Weender-Analyse des Futters	47
3.8.3.3	Mengenelemente.....	49
3.9	STATISTISCHE AUSWERTUNG	51
4	ERGEBNISSE	52
4.1	LABORCHEMISCHE PARAMETER UND KLINISCHE ERSCHEINUNGEN	52
4.1.1	Versuch 1	52
4.1.1.1	Parameter im Serum	52
4.1.1.2	Parameter im Urin	55
4.1.2	Versuch2	57
4.1.2.1	Parameter im Serum	57
4.1.2.2	Parameter im Urin	65
4.1.3	Versuch 3	71
4.1.3.1	Parameter im Serum	71
4.1.3.2	Parameter im Urin	77

4.2	WEENDER-ANALYSE UND MINERALSTOFFGEHALT DES FUTTERS	81
4.2.1	Weender-Analyse des Futters.....	81
4.2.2	Mineralstoffgehalt des Futters.....	82
5	DISKUSSION	83
5.1	KRITIK DER METHODIK	83
5.1.1	Zum Aufbau der Studie	83
5.1.1.1	Auswahl der Probanden.....	83
5.1.1.2	Zur Haltung und Fütterung der Tiere	84
5.1.2	Zum Ablauf der Studie.....	84
5.1.2.1	Verabreichung des Bolus.....	84
5.1.2.2	Blutentnahme.....	85
5.1.2.3	Uringewinnung	85
5.1.2.4	Wahl der Beurteilungskriterien und Untersuchungsmethoden.....	86
5.1.3	Zur Dosierung des Wirkstoffs und der Verabreichungsform.....	87
5.2	KRITIK DER ERGEBNISSE	88
5.2.1	Serumparameter	88
5.2.2	Urinparameter	99
5.2.3	Abschließende Beurteilung	107
6	ZUSAMMENFASSUNG	108
7	SUMMARY	110
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	112
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	132
10	TABELLENVERZEICHNIS.....	134
11	DANKSAGUNG.....	137

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
a.p.	ante partum
Ca	Calcium
CaBP	Calcium binding protein
CaCl ₂	Calciumchlorid
DCAB	Dietary cation-anion balance
g	Gramm
h	Stunde
HCL	Salzsäure
HNO ₃	Salpetersäure
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
I.E.	Internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
K	Kalium
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KOH	Kalilauge
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mRNA	messenger RNA
MW	Mittelwert
Na	Natrium
ng	Nanogramm
P	Phosphor
pg	Pikogramm
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
p.p.	post partum
PTH	Parathormon

Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
S	Schwefel
SA	Standardabweichung
s.c.	subcutan
S. glaucophyllum	Solanum glaucophyllum
TCA	Trichloressigsäure
TMR	Total Mixed Ration
TS	Trockensubstanz
VDR	Vitamin- D- Rezeptor
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
1,25(OH) ₂ D ₃	1α,25-Dihydroxycholecalciferol
25(OH)D ₃	25-Hydroxycholecalciferol
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-Dihydroxycholecalciferol
1α(OH)D ₃	1α-Hydroxycholecalciferol
24F-1,25(OH) ₂ D ₃	24F-Dihydroxycholecalciferol

1 Einleitung

Bei der hypocalcämischen Gebärpause des Rindes handelt es sich um eine peripartal auftretende Erkrankung der Milchkuh, die weltweit vorkommt. Mit dem Einsetzen der Laktation können die Mechanismen der Calciumhomöostase nicht adäquat auf den plötzlichen Calciumbedarf für die Produktion von Kolostrum v.a. bei Hochleistungskühen reagieren. Als Folge entwickelt sich das klinische oder subklinische Bild der Hypocalcämie. Angaben über die Inzidenz schwanken zwischen 5 und 10 %, wobei die Häufigkeit mit der Anzahl der Kalbungen ansteigt.

Mit dem Auftreten der Hypocalcämie ist eine erhöhte Anfälligkeit für Folgeerkrankungen wie Mastitis, Retentio secundinarum, Labmagenverlagerung u.a. verbunden. Die dadurch entstehenden Kosten bedeuten hohe wirtschaftliche Verluste in der Landwirtschaft. Aus diesem Grund ist es von großer Bedeutung eine praktikable Gebärpauseprophylaxe zu etablieren. Hierzu werden neben Fütterungsmaßnahmen in der Trockenstehphase, kurzzeitiger Verabreichung von schnell resorbierbaren Calciumsalzen auch Vitamin D eingesetzt. In zahlreichen Studien wurden Vitamin D₃ und dessen Metaboliten zur Prophylaxe eingesetzt. Hierbei wurden auch Untersuchungen zur Verabreichung von Vitamin D-Metabolit haltigen Pflanzen durchgeführt (FRICKE, 1985; BUCHELT, 1986; SCHLÖTTERER-WIESER, 2008).

In der vorliegenden Studie sollte der Einsatz eines Pflanzenextraktes von *Solanum glaucophyllum* (*S. glaucophyllum*) hinsichtlich der Wirkung auf die Calcium- und Phosphorkonzentration im Serum und damit der Eignung zur Milchfieberprophylaxe untersucht werden. *S. glaucophyllum* gehört zu den wenigen sogenannten calcinogenen Pflanzen, welche natürlicherweise den aktiven Vitamin D₃ Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol in glycosidisch gebundener Form enthalten. Eine Feldstudie an kalbenden Tieren hat gezeigt, dass die Applikation eines Extraktes aus *S. glaucophyllum* mindestens 72 und spätestens 12 Stunden vor der Abkalbung erfolgen muss, um eine ausreichende, prophylaktische Wirkung zu erzielen. Lag die Applikation außerhalb dieses Zeitfensters, konnte ein Festliegen nicht effektiv verhindert werden (SCHLÖTTERER-WIESER, 2008).

Aus dieser Problematik heraus, sowie aus der Tatsache, dass der genaue Geburtszeitpunkt eines Kalbes nicht exakt vorhergesagt werden kann, ergab sich die Überlegung, ob die Wirkung des Pflanzenextraktes in einer Retardform verlängert werden kann.

In der vorliegenden Studie sollten verschiedene Präparationen eines Extraktes von *S. glaucophyllum* an weibliche Rinder per os verabreicht werden. Als Vergleich dazu sollte synthetisches 1,25-Dihydroxycholecalciferol und ein nicht retardierter Extrakt von *S. glaucophyllum* eingesetzt werden. Des Weiteren sollte erstmalig geprüft werden, in wieweit durch den Einsatz von *S. glaucophyllum* die Ausscheidung von Calcium und Phosphor über den Urin beeinflusst wird.

2 Literaturübersicht

2.1 Hypocalcämische Gebärparese des Rindes

2.1.1 Definition, Inzidenz und Prädisposition

Die hypocalcämische Gebärparese des Rindes ist eine peripartal auftretende Erkrankung der Milchkuh, welche in der deutschsprachigen Literatur auch als puerperales Festliegen, Milch- oder Kalbefieber und Gebärkoma bezeichnet wird (MARTIG, 2002). Aufgrund der charakteristischen Hypocalcämie und Hypophosphatämie kommt es zu einer fortschreitenden Lähmung der quergestreiften und glatten Muskulatur, die zum Festliegen mit Kreislaufschwäche, Atonie des Verdauungstraktes und Bewusstseinstörung führt (BOSTEDT, 1993). Die Erkrankung tritt weltweit v.a. in Betrieben mit intensiver Milchproduktion auf. Im Durchschnitt erkranken 5 bis 10 % der Kühe einer Herde an Milchfieber, wobei die Inzidenz in einzelnen Fällen auch bis auf 34 % ansteigen kann (HOUE et al., 2001). Das Risiko für eine Kuh an Milchfieber zu erkranken steigt pro Laktation um 9 % (DEGARIS & LEAN, 2008) und weit mehr Kühe leiden peripartal an einer subklinischen Hypocalcämie, ohne dass offensichtliche Symptome der Hypocalcämie sichtbar werden (OETZEL, 1988). Die Inzidenz der subklinischen Hypocalcämie liegt zwischen 23 und 40 % (HOUE et al., 2001; ROCHE et al., 2002). Bei Tieren, die schon während einer früheren Laktation erkrankten, beträgt die Wahrscheinlichkeit für ein erneutes Auftreten der Krankheit 30 % (HOFMANN, 1992).

Als wichtigste prädisponierende Faktoren gelten die steigende Anzahl der Laktationen (METZNER & KLEE, 2003), ein zunehmendes Alter (CURTIS et al., 1984; HORST et al., 1997), sowie eine hohe Milchleistung, wobei nicht so sehr das Leistungspotential (Vorjahresleistung), als vielmehr die Einsatzleistung eine Rolle spielt (ZEPPERITZ, 1990). Auch genetische Einflüsse scheinen beteiligt zu sein. So erkrankten Rassen wie Jerseykühe häufiger als z.B. Holstein-Friesian-Kühe (HARRIS, 1981), was einerseits auf die vergleichsweise höhere Milchproduktion (OETZEL, 1988), und andererseits auch auf die verminderte Anzahl Vitamin D Rezeptoren im Darm bei Jerseykühen (GOFF, 2000) zurückzuführen sein könnte. Dabei wird die Krankheitsdisposition sowohl durch

Bullen als auch durch Kühe vererbt (URIBE et al., 1995). Eine weitere wichtige Rolle spielt die Fütterung in der Spätlaktation und in der Trockenstehperiode. Zu gut genährte Milchkühe (Body Condition Score > 3,5) zeigen aufgrund der zu hohen Energieversorgung vor der Geburt und dem damit verbundenen erhöhten Körperfettgehalt eine vergleichsweise geringere Futteraufnahme nach der Geburt und somit auch eine verringerte Calciumaufnahme (HEUER et al., 1999). Außerdem kommt es durch die Energieübersorgung in der Spätlaktation und in der Trockenstehperiode zu verstärkter Fetteinlagerung in Leber und Nieren, wodurch die Umwandlung von Vitamin D₃ in dessen aktive Form eingeschränkt ist (FÜRL, 1981). Bei calciumreichen Rationen in der Trockenstehphase kann der Bedarf an Calcium fast ausschließlich durch passive intestinale Absorption gedeckt werden, eine aktive Absorption aus dem Darm und eine ossäre Calciummobilisation werden kaum noch benötigt (GOFF et al., 1991a). Hierdurch treten die aktiven Mechanismen zur Absorption von Calcium, die aber bei Einsetzen der Laktation so dringend benötigt werden, weitgehend in den Hintergrund. Des weiteren kann auch eine exzessive Phosphatversorgung das Erkrankungsrisiko durch Hemmung der renalen 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Synthese und somit einer verminderten intestinalen Calciumabsorption erhöhen (GOFF et al., 1991a).

2.1.2 Symptomatik, Diagnostik und Therapie

In den meisten Fällen sind Kühe in den ersten 72 Stunden nach der Abkalbung betroffen (BOSTEDT et al., 1979), wobei aber auch Frühformen vor dem Partus und Spätformen fünf bis sechs Tage nach der Geburt auftreten können (DIRKSEN, 2002b). Außerhalb des peripartalen Zeitraumes kann es ebenfalls zum Abfall des Calciumspiegels kommen, ursächlich dafür können Faktoren wie Stress oder gastrointestinale Störungen sein (OETZEL, 1988).

Aufgrund der klinischen Symptome und der Verlaufsform werden drei Stadien unterschieden, die fließend ineinander übergehen. Stadium 1 ist gekennzeichnet durch eine geringgradige Aufregung, eine leicht verkrampfte Körperhaltung und eine leichte Hyperthermie. Das Stehvermögen des Tieres ist noch erhalten, jedoch sind die Wiederkauaktivität und die Pansenmotorik deutlich herabgesetzt (OETZEL, 1988; MARTIG, 2002). Dieses Stadium dauert meist weniger als eine

Stunde und bleibt meist unerkannt. Der Serumcalciumspiegel liegt häufig bei 1,9 mmol/l (HORNER et al., 2002), also bereits leicht unterhalb des als physiologisch angesehenen Referenzbereiches von 2,3 mmol/l bis 2,8 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Stadium 2 ist typischerweise durch Festliegen des Tieres in Brustlage mit seitlich eingeschlagenem Kopf, kühlen Extremitäten und einer kühlen Körperoberfläche, sinkender Körpertemperatur (bis auf 37°C) und Atonie des Magen-Darm-Traktes gekennzeichnet. Diese Phase kann bis zu zwölf Stunden andauern (OETZEL, 1988). Der Serumcalciumspiegel liegt in dieser Phase nicht selten bei etwa 1,3 mmol/l (HORNER et al., 2002). Stadium 3 ist durch Festliegen in Seitenlage, fortschreitendem Bewusstseinsverlust bis hin zu komatösen Zuständen, einer deutlichen Tympanie des Pansens und Tachykardie mit sehr schwacher Herzintensität gekennzeichnet. Kühe in diesem Stadium überleben unbehandelt meist nicht länger als einige Stunden (OETZEL, 1988). Der Serumcalciumspiegel liegt in diesen Fällen meist im Bereich von etwa 1 mmol/l (HORNER et al., 2002).

Neben der Hypocalcämie weist ein Grossteil der erkrankten Kühe auch eine Hypophosphatämie auf, während der Serummagnesiumgehalt unverändert bis leicht erhöht ist (ZEPPERITZ, 1990). Bei der durch Phosphormangel ausgelösten atypischen Form der Gebärparese kommen die Tiere mit unveränderten oder nur mäßig erniedrigten Calciumwerten bei ungetrübtem Sensorium zum Festliegen. Futteraufnahme, Rumination und Kotabsatz sind nur zu einem geringen Grad beeinträchtigt (HOFMANN, 1992). Unterschieden werden können diese Formen der Gebärparese anhand der Laborparameter. Bei Kühen im peripartalen Zeitraum ist immer eine leichte Hypocalcämie zu beobachten, die 1,9 mmol/l aber nicht wesentlich unterschreitet (MARTIG, 2002). Der Referenzbereich für den Phosphatgehalt liegt zwischen 1,6 und 2,3 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005).

Zur Therapie der klinisch manifesten Hypocalcämie wird eine Calciumlösung intravenös verabreicht, da dies die schnellste und effektivste Therapie ist (RADOSTITS et al., 2000; BRAUN et al., 2009). Handelsübliche Präparate enthalten 8,8 g bis 11,5 g Calcium pro 500 ml Infusionslösung, meist kombiniert mit Magnesium, Phosphit und Glukose (GOFF, 2002). Die Infusion wird über zehn Minuten unter ständiger Herzauskultation verabreicht, da es sonst zu Herzrhythmie mit Todesfolge kommen kann (OETZEL, 1988). Diese Therapie

dient in erster Linie der Wiederherstellung der Homöostase und stellt keine eigentliche Substitutionstherapie dar (BOSTEDT, 1973). Unterstützende Maßnahmen wie die Lagerung des Patienten auf weichem und rutschfestem Boden, das Anlegen eines Vergrittungsgeschirres und das Wenden des Tieres alle sechs bis acht Stunden beugen Drucknekrosen vor und verhindern schwerwiegende Verletzungen beim unsicheren Wiederaufstehen (STÖBER, 1993).

2.1.3 Pathogenese

Als eine wichtige Ursache der Gebärpause wird eine Störung der hormonell gesteuerten Regelmechanismen zur Aufrechterhaltung der Elektrolytbalance im Organismus der Kuh bei einem sprunghaften Anstieg des Abflusses von Elektrolyten mit beginnender Galaktopoesis angesehen. Während eine trockenstehende Kuh in den letzten zwei Monaten vor der Geburt nur etwa 33 g Calcium pro Tag benötigt (THILSING-HANSEN et al., 2002a), steigt der Bedarf bei Einsetzen der Laktation auf 100 g pro Tier und Tag an (ALLEN & DAVIES, 1981). Während der Trockenstehphase treten die hormonellen Regelmechanismen weitgehend in den Hintergrund, da der Calciumbedarf durch die passive, enterale Calciumabsorption gedeckt werden kann (RAMBERG et al., 1984). Mit Beginn der Kolostrumbildung jedoch muss sich die Kuh dem erhöhten Calciumbedarf anpassen, da für die Produktion von einem Liter Kolostrum 3,0 bis 3,4 g Calcium benötigt werden (HORST, 1986). Die meisten Kühe sind normalerweise in der Lage, sich diesem plötzlichen hohen Calciumbedarf anzupassen. Über Steuerung der calcitropen Hormone Parathormon (PTH) und 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) können intestinale Absorption, ossäre Freisetzung sowie renale Rückresorption von Calcium gesteigert und die Sekretion von Calcium in den Darm vermindert werden. Dabei wird vor allem der Steigerung der Calciumabsorption aus dem Darm in den ersten 10 bis 14 Tagen der Laktation besondere Bedeutung beigemessen (RAMBERG et al., 1984). Versagen diese Mechanismen oder dauert es zu lange, bis sie vollständig angelaufen sind, sinkt der Calciumspiegel weiter ab, bis sich schließlich das klinische Bild der Gebärpause entwickelt. Die häufig bei Kühen peripartal auftretende verminderte Futteraufnahme, herabgesetzte Pansenmotorik und Verdauungstätigkeit führen zu einer Verminderung der enteralen Calciumabsorption (DIRKSEN &

KAUFMANN, 1978; JÖNSSON, 1979). Lange Zeit wurde auch eine verminderte Anzahl an Rezeptoren für die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Kolon als Ursache angesehen, was allerdings von GOFF (1995) und später auch von LIESEGANG (2008) widerlegt werden konnte. Im peripartalen Zeitraum war zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen erkrankten und nicht erkrankten Tieren gleichen Alters festzustellen. Eine weitere Annahme, nämlich dass bei erkrankten Tieren eine Insuffizienz der Nebenschilddrüse vorliegt und somit nicht genügend Parathormon zur Verfügung steht, konnte ebenfalls von GOFF (1988) widerlegt werden. Bei erkrankten Tieren konnten sogar erhöhte PTH-Spiegel gemessen werden. In dem Zusammenhang fanden HORST et al. (1994) eine verzögerte oder gar ausbleibende Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Dieses Syndrom konnte bei etwa 20 % der erkrankten Kühe beobachtet werden. HORST et al. (1994) vermuteten bei diesen Tieren eine temporär refraktäre Reaktion der Nieren auf die PTH-Stimulation, da sich die PTH-Konzentrationen auf einem hohen Niveau befanden.

2.1.4 Wirtschaftliche Bedeutung

Wirtschaftliche Bedeutung erlangt die Gebärparese nicht nur aufgrund der anfallenden primären Behandlungskosten, sondern vor allem durch die mit hoher Wahrscheinlichkeit auftretenden Folgeerkrankungen. So ist bei hypocalcämischen Kühen das Risiko, an peripartalen Störungen wie Dystokie (CORREA et al., 1993), Prolaps uteri (RISCO et al., 1984), Retentio secundinarum (CURTIS et al., 1983), Endometritis (ERB et al., 1985), Mastitis (GOFF, 2003; LUCZAK et al., 2009) Ketose (OSTERGAARD & GROHN, 1999) und Labmagenverlagerung (MASSEY et al., 1993) zu erkranken um ein Vielfaches höher. Hinzu kommen Fruchtbarkeitsprobleme bei wieder genesenen Tieren, denn durch die Hypocalcämie kommt es zu einer verzögerten Uterusinvolution (BORSBERRY & DOBSON, 1989) und somit verlängerten Zeitspanne zwischen Abkalbung und erneuter Besamung (Rastzeit) (JONSSON et al., 1999). Die Gebärparese verursacht stets eine erhöhte Cortisol-Konzentration im Blut, was eine Immunsuppression zur Folge hat und das Haften von Infektionen wie Mastitiden, Endometritiden und Klauenentzündungen erleichtert (GOFF & HORST, 1997b). Darüber hinaus wird der Muskeltonus von Uterus, Labmagen und Zitzensphinkter (GOFF, 1999) deutlich vermindert, was das Auftreten von

Nachgeburtsverhaltungen, Puerperalstörungen, Uterusprolaps, Labmagenverlagerungen und Mastitiden erklärt. Durch die mit der Hypocalcämie einhergehende verminderte Futteraufnahme und eingeschränkte Insulinsekretion wird die oft auftretende Ketose noch zusätzlich verstärkt (GOFF & HORST, 1997b).

Des Weiteren ist mit einem allgemeinen Milchleistungsabfall von täglich bis zu drei Litern – verglichen mit vorangegangenen Laktationen - zu rechnen (SCHÜLTKE & MOLL, 1998). Zu allem kommen auch noch die Kosten für den Tierarzt hinzu. Insgesamt sind mit einem typischen Milchfieberfall Kosten von etwa 350 € für den Landwirt verbunden (Behandlungskosten plus Produktionsverluste) (DEITNER & BAUMGARTNER, 2006). Nicht zu vergessen sind zudem der erhöhte Arbeitsaufwand und die häufig sehr zeitintensive Betreuung der erkrankten Tiere durch den Landwirt (HORST, 1986). Die effektive Milchfieberprophylaxe stellt daher im Management der modernen Milchviehhaltung einen hohen Stellenwert dar.

2.1.5 Prophylaktische Maßnahmen

Fünf Konzepte, die auf breiter Basis Verwendung finden und in der Literatur häufig beschrieben werden, sollen im Folgenden Erwähnung finden. Weitere prophylaktische Maßnahmen, die in Studien eingesetzt wurden, werden unter **2.3** und unter **2.6** beschrieben.

- Calciumarme Fütterung ante partum
- Fütterung von Zeolite ante partum
- Anionenreiche Rationen in der Trockenstehzeit (DCAB-Konzept)
- Calciumsupplementierung im peripartalen Zeitraum
- Injektion von Vitamin D₃

2.1.5.1 Calciumarme Fütterung ante partum

Eine der ältesten Methoden ist das Absenken des Calciumgehalts in der Trockensteher-Ration in den letzten vier bis sechs Wochen ante partum. Dadurch sollen die endogenen Ca^{2+} -Mobilisationsmechanismen des Tieres schon vor der Abkalbung sensibilisiert werden. Der Organismus soll dazu veranlasst werden, seinen Calciumbedarf nicht nur über passive Diffusion aus dem Darm, sondern insbesondere über die aktive Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt und Mobilisation aus dem Knochen zu decken (CHAMBERLAIN & WILKINSON, 2002), um somit ein zu starkes Absinken des Calciumspiegels zu Laktationsbeginn zu verhindern (GOINGS et al., 1974; GREEN et al., 1981). Um diesen Effekt zu erzielen, sollte die tägliche Calciumaufnahme auf 10 - 30 g pro Tier reduziert werden (HORST et al., 1997; GOFF, 2004), was sich allerdings aufgrund der i.d.R. hohen Calciumgehalte in den Grundfuttermitteln als kaum realisierbar darstellt.

2.1.5.2 Fütterung von Zeolite

Eine weitere Prophylaxemaßnahme ist der Zusatz von calciumbindenden Substanzen wie Natriumsilikat (Zeolite) um das verfügbare Calcium im Futter zu verringern. Die entstehenden Ca-Komplexe können dann vom Körper nicht mehr resorbiert werden (THILSING-HANSEN et al., 2002b; KATSOULOS et al., 2005; PALLESEN et al., 2008). Allerdings ist hierbei das Problem, dass nicht nur spezifisch Calcium, sondern auch andere zweiwertige Ionen wie Magnesium gebunden werden. Um die durch den Zusatz von Zeolite mögliche Hypomagnesiämie (GRABHERR et al., 2008) zu vermeiden, sollte daher zusätzlich Magnesium supplementiert werden (PALLESEN et al., 2008).

2.1.5.3 Anionenreiche Fütterung in der Trockenstehzeit (DCAB-Konzept)

Anfang der 70er Jahre gelang es ENDER et al. (1971) erstmals, durch das Verfüttern „alkalischer“, d.h. natrium- und kaliumreicher Rationen, Milchfieber auszulösen. Umgekehrt ist es ihnen gelungen, das Auftreten von Milchfieber durch das Verfüttern von stark „saurem“ Futter in den letzten Wochen vor der Abkalbung zu verhindern. Damit gelten sie als Begründer des sogenannten DCAB-Konzeptes (Dietary Cation Anion Balance), dessen Prinzip darin besteht,

durch diätetische Maßnahmen eine milde, in der Regel kompensierte metabolische Azidose zu induzieren, indem das Verhältnis bestimmter Kationen zu bestimmten Anionen in der Ration verändert wird. DCAB steht für die Summe der Kationen Natrium und Kalium abzüglich der Summe der Anionen Chlorid und Schwefel im Futter in Milliäquivalent (meq) pro Kilogramm Trockensubstanz (TS).

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

Diese Formel wird als Standard für die Berechnung des DCAB im Futter gebraucht (OETZEL, 2000). Die in die Formel einbezogenen Ionen üben hauptsächlich einen Einfluss auf den systemischen Säure-Basen-Haushalt der Kuh aus (BLOCK, 1994).

Der Organismus versucht bei Zufuhr von Ionen die elektrische Neutralität des Körpers wieder herzustellen, indem er z.B. die renale Rückresorption des Bicarbonats moduliert. Daraus ergibt sich eine Erhöhung der H^+ -Konzentration bei einem Anionenüberschuss und eine Erhöhung der HCO_3^- -Konzentration bei einem Kationenüberschuss (BLOCK, 1994). Eine leichte metabolische Azidose entsteht somit, wenn die Kuh mehr Anionen aufnimmt, und eine leichte metabolische Alkalose umgekehrt, wenn sie mehr Kationen aufnimmt (PEHRSON et al., 1999).

Die meisten Grundfuttermischungen für Trockensteher sind kationen-, vorwiegend kaliumreich. In vielen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Kühe, denen in der Trockenstehphase ein mit anionischen Salzen angereichertes Futter angeboten wurde, signifikant weniger an Milchfieber und Hypocalcämien litten als Kühe, die kationenreiche Rationen erhielten (BLOCK, 1984; GAYNOR et al., 1989; GOFF et al., 1991b; GOFF, 2000). Verschiedene Studien haben ergeben, dass der DCAB-Wert zwischen – 150 meq/kg TS und – 100 meq/kg TS betragen sollte, um eine ausreichende Prophylaxe zu gewährleisten (MOORE et al., 2000).

Der Mechanismus der Prophylaxe durch die sauren Salze ist noch nicht völlig geklärt, allerdings soll durch die leichte metabolische Azidose die Ansprechbarkeit des Knochen- und Nierengewebes auf Parathormon erhöht werden (GAYNOR et al., 1989; GOFF et al., 1991b). Im Zeitraum um die Geburt scheinen bei Kühen mit metabolischer Alkalose die Nieren und Osteoklasten gegenüber Parathormon refraktär zu reagieren, was GOFF (2000) auf die im

alkalischen Bereich in ihrer Struktur veränderten PTH-Rezeptoren zurückführt. Eine andere Theorie besagt, dass durch die Fütterung anionenreicher Diäten eine Stimulation der Calciummobilisierung aus dem Skelettsystem erfolgt. ABU DAMIR et al. (1994) stellten fest, dass in Knochenbiopsien von Kühen, die ante partum eine anionenreiche Ration erhalten hatten, signifikant mehr Knochensubstanz abgebaut worden war, als bei Kühen, die mit einer kationenreichen Ration gefüttert worden waren. Allerdings wird die Schmackhaftigkeit des Futters durch die Zugabe von anionischen Salzen herabgesetzt, was zu einer geringeren Trockensubstanzaufnahme führen kann (THILSING-HANSEN et al., 2002a). Auch durch kationenarme Rationen kann das oben genannte Ziel erreicht werden. GOFF und HORST (1997) erbrachten den Beweis, dass Tiere, die kalium- und natriumarme Rationen erhielten, weniger oft an Milchfieber erkrankten als solche die kalium- und natriumreiche Rationen erhielten.

2.1.5.4 Calciumsupplementierung im peripartalen Zeitraum

Eine weitere häufig angewendete Prophylaxemaßnahme, besteht in der wiederholten oralen Gabe größerer Calciummengen über einen Zeitraum von ca. 48 h rund um den Partus. Die erfolgreiche Anwendung setzt allerdings voraus, dass der Zeitpunkt der Abkalbung präzise vorausgesagt werden kann, was vom Tierhalter ein hohes Maß an genauer Beobachtung und persönlichem Engagement erfordert. Üblicherweise erfolgt dann die erste Calciumgabe ca. 12 h vor dem erwarteten Geburtszeitpunkt, die zweite direkt nach dem Abkalben, die dritte und vierte ca. 12 h bzw. 24 h post partum (JONSSON & PEHRSON, 1970; OETZEL, 1996). Die Menge des mit jeder Applikation zugeführten Calciums liegt bei je ca. 50 g (MARTIG, 2002).

Im Handel werden zu diesem Zwecke verschiedene Präparate angeboten, wobei es sich zumeist um Boli, Gele oder Emulsionen mit Calcium in unterschiedlichen Formulierungen handelt. Zumindest für Calciumchlorid gilt, dass sich die Verfügbarkeit zwischen den unterschiedlichen Darreichungsformen nicht wesentlich unterscheidet (FÜRLI & OETZEL, 2003). Der Nachteil der Verabreichung von Calciumchlorid ist, dass es stark schleimhautreizend ist und somit zu Schleimhautreizungen im Maulbereich und Verdauungstrakt führen kann

(WERMUTH, 1990). KÜMPER (1992) beschreibt Nekrosen in Schlund, Haube und Pansen nach Verabreichung von Calciumchlorid haltigen Boli und Gelen an Kühe.

Durch die Verabreichung von Calciumchlorid wird der pH-Wert im Blut gesenkt. Geringgradige pH-Wert Veränderungen sind insofern günstig, als dass alkalotische Zustände verhindert und die Zielgewebe für Parathormon empfindlicher werden (GOFF et al., 1991b; GOFF & HORST, 1993). Allerdings kann durch die Aufnahme zu großer Mengen Calciumchlorid auch eine starke metabolische Azidose induziert werden, was die im peripartalen Zeitraum ohnehin auftretende Reduzierung der Futteraufnahme weiter verstärkt (GOFF & HORST, 1993; GOFF & HORST, 1994). Die Verabreichung von Calciumpropionat hat sich als schonender erwiesen, es treten keine Schleimhautläsionen auf, der pH-Wert des Blutes wird nicht gesenkt und ein zusätzlicher Vorteil ist die glucoplastische Eigenschaft des Calciumpropionats. Das Propionat kann im Organismus der Kuh zur Glukoneogenese eingesetzt werden, dies kann die im post partalen Zeitraum häufig auftretende Ketose und Leberverfettung reduzieren (GOFF & HORST, 1994).

2.1.5.5 Injektion von Vitamin D₃

Nachdem Vitamin D eine Schlüsselrolle in der Regulation des Calciumhaushaltes zukommt, liegt es nahe es auch in der Milchfieberprophylaxe einzusetzen. Die derzeit in der Praxis verwendeten Präparate zur Milchfieberprophylaxe werden meist intramuskulär oder subkutan injiziert. Dabei schwanken die Dosierungen zwischen 5 und 10 Mio I.E. Vitamin D₃ für eine Kuh mit etwa 500 kg Körpergewicht. Auch die Angaben über den Applikationszeitpunkt und die Häufigkeit der Applikation des jeweiligen Präparates unterscheiden sich. Meist wird die erste Applikation 6 Tage vor dem erwarteten Geburtstermin empfohlen, erfolgt die Geburt nicht bis zum 6. Tag nach der Applikation, soll das Präparat in gleicher Menge und gleicher Weise nachdosiert werden.

Da sich diese Arbeit vorwiegend mit Vitamin D und dessen Metaboliten beschäftigt, soll auf dessen Bildung und Funktion im Körper hier näher eingegangen werden.

2.2 Der Wirkstoff Vitamin D

2.2.1 Bildung und Metabolisierung

Der Bedarf an dem fettlöslichen Vitamin D kann entweder aus der Nahrung oder durch Eigenbildung gedeckt werden, sofern Zugang zu Sonnenlicht, genauer gesagt UV-Licht, vorhanden ist (RAMBECK, 1997). Bei Stallhaltung geht die Eigensynthese von Vitamin D auf nahezu null zurück. Ursprung der Synthese ist das Cholesterol, das in den Hepatozyten durch das Enzym Cholesteroldehydrogenase zu 7-Dehydrocholesterol umgebaut wird. Dieses gelangt, an Transportproteine gebunden, über den Blutweg aus den Hepatozyten in die Keratinozyten der Haut. In der Epidermis wird unter Einfluss von UV-Licht bestimmter Wellenlänge (UVB, 290-315 nm) (MACLAUGHLIN et al., 1982) der B-Ring des Steroidmoleküls geöffnet. Dies führt zur Bildung von Prävitamin D₃ (HOLICK et al., 1995). Dieses Provitamin D₃ ist nach der photochemischen Isomerisierung zuerst rotationsinstabil (ESVELT et al., 1978). Erst in einem zweiten, temperaturabhängigen Schritt entsteht durch Verschiebung einer Doppelbindung das stabile Vitamin D₃. Das in der Epidermis gebildete Vitamin D₃ besitzt noch keine biologische Aktivität.

An Plasmatransportproteine gebunden, gelangt es über das Blut als nächstes in die Leber, wo es mittels des Enzyms 25-Hydroxylase zu 25-Hydroxycholecalciferol (25(OH)D₃) umgewandelt wird (DELUCA, 2009) und anschließend weiter zu den Nieren transportiert wird (wiederum an ein spezifisches Transportprotein gebunden). In der Niere wird 25(OH)D₃ durch ein mitochondriales Enzym, die 25(OH)D-1 α -Hydroxylase (1-Hydroxylase) zu dem aktiven Vitamin D₃ Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25-(OH)₂D₃), welches auch als Calcitriol bekannt ist, metabolisiert. In einem Feed-back-Mechanismus reguliert 1,25(OH)₂D₃ seine eigene Bildung. Hohe Dosen von 1,25(OH)₂D₃ induzieren in der Niere die Bildung der 24-(OH)D-24-Hydroxylase, wodurch vermehrt 24,25(OH)₂D₃ aus 25(OH)₂D₃ entsteht (DELUCA, 1981).

Der Hauptsyntheseort des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist die Niere, aber auch in Keratinozyten (BIKLE et al., 1986), in der Prostata (SCHWARTZ et al., 1998) und in aktivierten Makrophagen des Knochenmarks (REICHEL & NORMAN, 1989) kann $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mittels der 1α -Hydroxylase in geringen Mengen synthetisiert werden.

2.2.2 Wirkung

Die Wirkung des hormonell aktiven Vitamin D_3 wird durch einen Vitamin-D-Rezeptor (VDR) vermittelt. Der VDR bindet das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit einer höheren Spezifität als z.B. $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder Vitamin D_3 (PIKE, 1984). Der Mechanismus, mit dem das Steroidhormon $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Calciumhomöostase regelt, ist demjenigen, dem sich die klassischen Glucocorticoide oder Steroidhormone bedienen sehr ähnlich (FRASER, 1995). Durch die Bindung an den Rezeptor wird die Transkription spezifischer mRNA ausgelöst, die wiederum den Code für spezielle Proteine tragen. Die Expression von Calcium binding protein (CaBP), welches für den Transport von Calcium in den Darmzellen zuständig ist (CHRISTAKOS et al., 2003) läuft nach oben genanntem Prinzip ab (MINGHETTI et al., 1988). Neben dem genomischen, VDR-vermittelten Weg, kann $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auch Reaktionen auf zellulärem Weg auslösen. Diese Reaktionen auf Basis einer physiologischen Zellantwort werden auch als „RAPID RESPONSES„ bezeichnet. Die Wirkung dieser „Rapid Responses„ setzt bereits nach wenigen Sekunden bis Minuten ein, während die Zellantwort auf genomischem Weg frühestens nach 60 Minuten messbar ist (NORMAN et al., 1992). Die Stimulation der Calciumaufnahme aus dem Darm, auch Transcaltachia genannt, ist ein Beispiel für solch eine schnelle Zellantwort (NEMERE & NORMAN, 1988).

2.2.2.1 Calcium- Absorption aus dem Darm

Der Calciumabsorption aus dem Darm liegen zwei unterschiedliche Mechanismen zugrunde. Zum einen findet ein aktiver, transzellulärer Transportprozess hauptsächlich im Duodenum und Jejunum statt. Zum anderen erstreckt sich ein passiver, parazellulärer Transport von Calcium über die gesamte Länge des Darms (BRONNER et al., 1986). Der **aktive Calciumtransport** kann in 3 Phasen gegliedert werden.

In der ersten Phase tritt Calcium passiv in die Zellen des Bürstensaums ein. Die zweite Phase ist durch den Calciumtransport innerhalb der Darmzellen gekennzeichnet und endet mit dem Ausstoß von Calcium auf der serosalen Seite des Darms in den Blutstrom, was die dritte Phase darstellt (BOUILLON et al., 2003). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hat auf diesen Transportprozess an folgenden Punkten Einflussmöglichkeiten (WASSERMAN, 1997).

- Die Bildung von epithelialen Calciumkanälen an der luminalen Darmseite, die für einen unbeschränkten Calciumeinstrom in das Zellinnere sorgen, wird durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gesteigert (HOENDEROP et al., 1999).
- Der intrazelluläre Calciumtransport findet an CaBP gebunden statt. Zusätzlich schützt CaBP in der Funktion eines Puffers die Zellen vor apoptotischem Zelltod und beschleunigt den Calcium-Ausstoß aus der Zelle, indem es mittels Bindung die Calcium-ATPase stimuliert. Die Synthese von CaBP ist Vitamin-D-abhängig (CHRISTAKOS et al., 1992; NORMAN et al., 1992).
- Der Ausstoß von Calcium aus der Zelle an der serosalen Seite ins Blut erfolgt mittels einer Ca^{2+} -Pumpe (Ca^{2+} -ATPase) sowie eines durch den transmembranalen Natrium-Gradienten angetriebenen $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers, wobei die Funktion des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers nicht durch das Vitamin D_3 beeinflussbar ist (SCHWEIGERT, 2005).

Der intrazelluläre, CaBP-abhängige Transport des Calciums stellt hierbei den limitierenden Faktor dar (BRONNER, 2003). Dieser aktive Transportweg ist bereits in geringen Calciumkonzentrationen im Darmlumen gesättigt und erfordert metabolische Energie. Bei erhöhtem Bedarf an Calcium in Gravidität oder Laktation oder bei geringem Calciumgehalt in der Ration, wird der aktive Transportweg durch die Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hoch reguliert. Liegt dagegen in der Nahrung genügend Calcium vor, wird der aktive, transzelluläre Transport gedrosselt, da aufgrund eines Konzentrationsgefälles zwischen Darmlumen und Blutstrom der parazelluläre, passive Transport überwiegt (SLEPCHENKO & BRONNER, 2001).

Der **passive Transport** funktioniert nach dem Prinzip des Konzentrationsgefälles und ist direkt abhängig vom Calcium-Gehalt der Nahrung und der Verweildauer des Chymus in dem jeweiligen Darmabschnitt. Bei einem hohen Calciumgehalt in der Ration wird der Anteil des parazellulär aufgenommenen Ca^{2+} auf bis zu 50 %

geschätzt (NELLANS, 1988, 1990). Der Transport erfolgt per Diffusion durch die Tight Junctions zwischen den Darmzellen und ist somit nicht sättigbar (PANSU et al., 1983). Limitierender Faktor bei diesem Mechanismus ist das Calciumangebot im Futterbrei, nur bei hohem bis normalem Gehalt ist das Konzentrationsgefälle für die Calciumaufnahme ausreichend (PANSU et al., 1993). Durch die Eingabe calciumhaltiger Boli, Emulsionen oder Gele zur Prophylaxe der Gebärfähigkeit des Rindes wird genau dieser Mechanismus genutzt (GOFF, 2008).

2.2.2.2 Calciumresorption in der Niere

Calcium wird beim Rind im Wesentlichen über die Nieren ausgeschieden. Ungebundenes Calcium wird glomerulär filtriert, wobei ungefähr 90 % im proximalen Tubulus und der Henle-Schleife meist parazellulär und ohne Regulation rückresorbiert werden (LÖFFLER & BRINGELIUS-FLOHE', 2007). Die Regulation der Ausscheidung erfolgt im distalen Tubulus (Pars convoluta) durch Parathormon und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, welche dort die Calciumreabsorption stimulieren und so die renale Calciumausscheidung vermindern. Hierfür sind spezielle Transportmechanismen vorhanden (CRAVISO et al., 1987). Gegenteilig verhält es sich mit der Phosphatdiurese. Während hier Parathormon die Ausscheidung fördert, verursacht $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine erhöhte Phosphatreabsorption aus dem Primärfiltrat der Niere (DELUCA, 1974).

2.2.3 Calcium- und Phosphorhomöostase

Bei der Aufrechterhaltung des streng regulierten Calcium- und Phosphorspiegels im Serum stellen der Darm, die Nieren und die Knochen die Hauptzielorgane dar. Während die Mineralien in Darm und Nieren verstärkt aufgenommen bzw. rückresorbiert werden können, dient der Knochen als Speicherreservoir. Neben dem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ spielen bei der Regulation der Calcium- Phosphor-Homöostase zwei weitere Hormone, das Calcitonin und das Parathormon eine wichtige Rolle (DELUCA, 2009). Nachfolgend soll eine kurze Übersicht über die Funktionen dieser beiden Hormone gegeben werden, detaillierte Ausführungen sind der Literatur zu entnehmen.

Parathormon

PTH ist ein Polypeptidhormon, welches in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse gebildet wird. Die Hauptfunktion von PTH besteht in der Erhöhung der Calciumkonzentration im Blutplasma, wenn diese unter einen bestimmten Wert absinkt. Besteht eine Hypocalcämie, wird vermehrt PTH gebildet und ins Blut abgegeben. In der Niere wird durch PTH die Bildung des Enzyms 1α -Hydroxylase induziert, während es gleichzeitig die 24-Hydroxylase hemmt. Als Folge wird vermehrt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und weniger $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet. Durch PTH werden die Calciumresorption und die Ausscheidung von Phosphat in der Niere erhöht. Der dadurch hervorgerufene verminderte Serumphosphatspiegel fördert die Calciumfreisetzung aus dem Knochen (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2007). Hohe Konzentrationen an PTH führen zu einer Aktivierung der Osteoklasten und führen so zu einer Mobilisation von Calcium und Phosphor aus dem Knochen.

Calcitonin

Calcitonin ist ein Peptidhormon, welches in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet wird. Calcitonin wird bei einer Hypercalcämie ausgeschüttet und bewirkt eine Erniedrigung des Calciumgehaltes im Serum durch vermehrten Einbau von Calcium in den Knochen (mittels Hemmung der Osteoklastentätigkeit). In der Niere wirkt Calcitonin synergistisch zum Parathormon, steigert also ebenfalls die Ausscheidung von Phosphor und die Rückresorption von Calcium (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2007).

Mit der Entdeckung der Vitamin D-Metaboliten stehen zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese Stoffe zur Verfügung, die sich gegenüber dem Cholecalciferol durch ihren schnellen und effektiven Wirkungseintritt und ihre hohe Potenz auszeichnen. Man erhofft sich dadurch, den Calciumstoffwechsel präziser regulieren zu können.

2.3 Bisherige Studien zum Einsatz synthetischer Vitamin D₃ Metaboliten

Seit der Entdeckung der Vitamin D₃ Metaboliten wurden diese in zahlreichen Studien zur Prophylaxe der Gebärpause eingesetzt. Einige dieser Studien sollen im folgenden Erwähnung finden.

1 α -Hydroxycholecalciferol (1 α (OH)D₃)

Das 1 α (OH)D₃ ist ein synthetisches Analogon des 1,25(OH)₂D₃. Bereits 1975 konnte BARLET den steigernden Effekt von 1 α -(OH)D₃ auf den Calcium- und Phosphorgehalt im Serum des Rindes nachweisen. Die Prophylaxe mittels 1 α (OH)D₃ wurde in vielen Studien getestet. Dabei schwanken die eingesetzten Dosierungen zwischen 350 und 700 μ g pro Tier, auch die Applikationszeitpunkte und -arten unterscheiden sich zwischen den Studien erheblich. Zahlreiche Studien haben jedoch gezeigt, dass der optimale Zeitpunkt um eine ausreichende Prophylaxe zu erreichen zwischen 72 und 24 Stunden vor der Geburt liegt (WITTEW & FORD, 1978; BAR et al., 1980; VAGG et al., 1981; SACHS et al., 1987). Zum Teil wurde die Geburt auch eingeleitet, um dieses Zeitfenster zu treffen, so applizierte beispielsweise MANSTON (1981) am 275. Tag der Trächtigkeit 500 μ g 1 α (OH)D₃ in Kombination mit 500 μ g Cloprostenol um die Geburt einzuleiten. HODNETT (1992) hingegen wählte einen anderen Zeitraum und begann bereits 15 Tage vor der Geburt. In einem fünftägigen Intervall applizierte er 500 μ g 1 α (OH)D₃ in Kombination mit 4 mg 25(OH)D₃, wodurch eine Gebärpauseinzidenz von 8 % erzielt wurde, während diese in der Kontrollgruppe beim vierfachen, nämlich bei 33 % lag. Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Übersicht über den Einsatz von 1 α (OH)D₃.

Tabelle 2.1: Übersicht über einige Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause mittels $1\alpha(\text{OH})_2\text{D}_3$

Anwendungsmodus von $1\alpha(\text{OH})_2\text{D}_3$	Effekte oder Ergebnisse	Quelle
350µg/Tier i.m. 7 Tage a.p. Wdh. alle 48 h	39 % FL in KG 0 % FL in BG	SACHS et al. 1977
500µg/Tier i.m. 4-11 Tage a.p.	17 % FL in KG 8 % FL in BG	WITTWER & FORD 1978
500µg/Tier s.c. 2-7 Tage a.p.	17 % FL in KG 12 % FL in BG	DAVIES et al. 1978
500µg/Tier s.c. 4 Tage a.p. falls nach 48h keine Geburtsanzeichen dann 10 mg Betamethason i.m.	35 % FL in KG 5 % FL in BG	MCMURRAY et al. 1980
350µg/Tier i.m. 3 Tage a.p. Wdh. nach 72 h ,falls nach weiteren 48 h keine Geburt, dann 5 mg Flumethason i.m.	36 % FL in KG 0 % in BG	BAR et al. 1980
500µg/Tier i.m. 7 Tage a.p. Wdh. nach 5-7 Tagen	32 % FL in KG 23 % FL in BG	VAGG et al. 1981
500µg/Tier s.c. + 500µg Cloprostenol i.m. am 275. Tag der Trächtigkeit	18 % FL in KG 50 % in BG	MANSTON et al. 1981
500µg/Tier i.m.+ 25 mg $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i.m. 15 Tage a.p. in 5- tägigem Intervall bis zur Geburt, jeweils mit der angegebenen Dosierung	33 % FL in KG 8 % FL in BG	HODNETT et al. 1992

Zeichenerklärung : FL : Festliegen, KG: Kontrollgruppe, BG: Behandlungsgruppe

25-Hydroxycholecalciferol

25(OH)D₃ ist die Vorstufe des 1,25(OH)₂D₃. Von einigen Autoren wird es als geeignetes Prophylaktikum gegen die hypocalcämische Gebärpause beschrieben (OLSON et al., 1973; JORGENSEN et al., 1978; OBERHEIDE et al., 2010).

Da es in der Niere erst zu 1,25(OH)₂D₃ hydroxyliert werden muss, hat es einen relativ langsamen Wirkungseintritt, der von OLSON (1973) mit 72 Stunden angegeben wird. Derselbe Autor konnte mit der Verabreichung von 4 mg 25(OH)D₃ pro Tier (48 h vor der erwarteten Geburt) eine Reduktion der Gebärpausefälle von 29 % (7 von 24 Kontrolltieren) auf 16 % (4 von 21 behandelten Tieren) erreichen. Bei einer Dosissteigerung auf 8 mg/Tier und dem gleichen Anwendungsmodus konnte er in einem zweiten Versuch sogar eine Reduktion der Gebärpausefälle von 52 % (12 von 23 Kontrolltieren) auf 19 % (4 von 21 behandelten Tieren) verzeichnen.

JORGENSEN (1978) verabreichte in seiner Studie ebenfalls 4 mg oder 8 mg 25(OH)D₃ pro Tier i.m., allerdings schon 3 Tage vor dem errechneten Geburtstermin. Bei Kühen, die nicht innerhalb dieser 3 Tage kalbten, wurde die Injektion wöchentlich bis zur Geburt wiederholt. Der Calcium- und Phosphorgehalt im Plasma fiel 7 Tage nach der Injektion wieder auf den Ausgangswert zurück. In der Studie, in der 4 mg/Tier verabreicht wurden, konnte die Gebärpauseinzidenz von 29 % (Kontrolltiere) auf 16 % (behandelte Tiere) gesenkt werden. Bei den Tieren, die mit 8 mg behandelt wurden, konnte die Inzidenz sogar von 52 % (Kontrolltiere) auf 19 % (behandelte Tiere) reduziert werden. Das Problem der Geburtszeitpunktbestimmung blieb allerdings bestehen, nur wenn die Tiere innerhalb 72 h bis 10 Tage nach der Behandlung in Geburt kamen, konnten keine Fälle von Gebärpause verzeichnet werden. Dabei zeigte sich auch kein Unterschied zwischen den beiden angewendeten Dosierungen.

In einer aktuellen Studie von OBERHEIDE et al. (2010) wurde 25(OH)D₃ in Kombination mit einer Anionendiät eingesetzt. Die Anionendiät wurde 10 Tage vor der Geburt begonnen und gleichzeitig wurde den Tieren einmal täglich 3 mg 25(OH)D₃ bis zur Geburt per os verabreicht. Es hat sich gezeigt, dass der Abfall des Serumcalciumspiegels im peripartalen Zeitraum durch zusätzliche Fütterung

des 25(OH)D₃ gegenüber der alleinigen Fütterung der Anionendiät deutlich vermindert werden konnte.

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

Durch die Fluorierung von Vitamin D- Metaboliten am C-Atom 24 soll die 24-Hydroxylierung blockiert werden und somit der Inaktivierung von 1,25(OH)₂D₃ entgegenwirken. Die Fluorierung bewirkt eine Verlängerung der biologischen Halbwertszeit und eine Steigerung der Wirksamkeit im Vergleich zu 1,25(OH)₂D₃ (GOFF et al., 1988). Durch Verabreichung von 100 µg 24F-1,25(OH)₂D₃ pro Tier i.m. (7 Tage vor der erwarteten Geburt) und einer Wiederholung der Behandlung alle 7 Tage bis zur tatsächlichen Geburt konnte GOFF (1988) die Inzidenz von 85 % (Kontrolltiere) auf 43 % (behandelte Tiere) senken. Bei Verabreichung von 150 µg 24F-1,25(OH)₂D₃ im gleichen Behandlungsschema konnte die Inzidenz um weitere 14 % in der Behandlungsgruppe auf 29 % reduziert werden. Aber auch hier blieb die Problematik der Geburtszeitpunktbestimmung. GOFF und HORST (1990) setzten in ihren Studien eine neue Applikationsform ein. 24F-1,25(OH)₂D₃ wurde in einer Dosierung von 250 µg pro Tier dosiert. Diese Substanz wurde in einem Methylcellulose Kügelchen direkt unter die Haut in der Hungergrube der Tiere implantiert. Sieben Tage vor dem erwarteten Geburtstermin wurde das erste Kügelchen implantiert. Bei Kühen, die nicht innerhalb dieser 7 Tage kalbten, wurde im 7 Tage Intervall bis zur tatsächlichen Geburt erneut ein Kügelchen mit derselben Dosis implantiert. Die Gebärpareseinzidenz konnte damit erfolgreich von 80 % (Kontrollgruppe) auf 9 % (Behandlungsgruppe) gesenkt werden. Jedoch führt jede Verabreichung dieser Kügelchen zu einem schnellen Anstieg des 1,25(OH)₂D₃ im Serum, der weit über dem Referenzwert liegt. Bei mehrmaligem Anstieg (durch häufig wiederholte Verabreichung der Kügelchen) könnte eine Verkalkung der Nieren die Folge sein. Ein weiterer Nachteil ist die teure Herstellung des synthetischen 24F-1,25(OH)₂D₃.

1,25(OH)₂D₃

Da 1,25(OH)₂D₃ bereits die aktive Form des Vitamin D₃ darstellt, hat es einen noch schnelleren Wirkungseintritt als das 1α(OH)D₃. HOFFSIS et al. (1978) stellten fest, dass durch 1,25(OH)₂D₃ bei gleicher Dosierung die Calcium- und Phosphorwerte im Serum wesentlich höher ansteigen, als durch die Verabreichung

von $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$. Den Zeitraum bis zum Wirkungseintritt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ geben diese Autoren mit 24 Stunden an. Sie verabreichten den Kühen einen Tag vor der erwarteten Geburt $600\text{ }\mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i.m. Bei Kühen, die nicht innerhalb dieser Zeit kalbten wurde mit $270\text{ }\mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pro Tier i.m. in 2 bis 3-tägigem Intervall bis zum Beginn der Geburt nachdosiert. Durch diese Nachdosierung mit der geringeren Menge von $270\text{ }\mu\text{g}$ konnten sie auch bei Kühen, deren Geburtstermin nicht exakt vorhergesagt worden war, eine Aufrechterhaltung des Calcium- und Phosphorspiegels im Serum über die Kalbung hinaus erreichen.

GAST et al. (1979) stellten nach intramuskulärer Injektion von $400\text{ }\mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pro Tier einen deutlichen Anstieg der Calcium- und Phosphorwerte im Serum bereits nach 12 Stunden fest. Das Maximum der Blutwerte wurde nach 24 Stunden gemessen, während 72 Stunden post partum zu den unbehandelten Kontrolltieren keine bedeutenden Unterschiede in den Blutwerten mehr festgestellt werden konnten. Sie applizierten das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bereits 5 Tage vor der Geburt und wiederholten die Injektion in 5-tägigem Intervall bis die Kuh tatsächlich kalbte. Mit dieser Anwendung konnten sie die Inzidenz von 33 % (Kontrollgruppe) auf 0 % (behandelte Tiere) senken.

Der richtige Applikationszeitpunkt des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vor der Geburt stellte weiterhin ein Problem dar. Dies veranlasste CARSTAIRS et al. (1981) zu einer neuen Studie. Nach ihren Untersuchungen steigen die Calcium- und Phosphorgehalte im Serum nach Injektion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ um 12 bis 18 Stunden früher an, als bei Injektion von $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$. Dagegen ist die Wirkdauer von $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ um vier Tage länger als diejenige von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (acht Tage statt vier Tage). Um eine Kombination einer schnell wirkenden Substanz und einer lang anhaltenden Substanz zu haben, entschieden sie sich deshalb für eine kombinierte Anwendung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$. So verabreichten sie sieben Tage vor dem erwarteten Kalbetermin $100\text{ }\mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Kombination mit $400\text{ }\mu\text{g}$ $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ pro Tier i.m. Bis zum Beginn der tatsächlichen Geburt wurde bei 3 Tieren mit der gleichen Dosis in 5-tägigem Intervall nachdosiert, bei 3 weiteren Tieren wurde in 7-tägigem Intervall nachdosiert. Eine wirkungsvolle Prophylaxe konnte nur bei 5-tägigem Verabreichungsintervall erreicht werden, keines der so behandelten Tiere entwickelte MilCHFieber, während nach Anwendung in 7-tägigem Intervall alle 3

Tiere an Milchfieber erkrankten.

HOVE und KRISTIANSEN (1982) hatten mit der oralen Verabreichung von 500 µg 1,25(OH)₂D₃ nur dann Erfolg, wenn die Behandlung zwischen 24 und 72 h vor der Geburt erfolgte. Sie sehen die Hauptprobleme der Prophylaxe mittels 1,25(OH)₂D₃ in der nur sehr kurzen Wirkungsdauer. Es ergaben sich daher Schwierigkeiten, den richtigen Behandlungszeitpunkt zu finden, was ihnen bei ihren Versuchen auch nur zu 50 % gelang.

HOVE et al. untersuchten 1983 die Wirkung von oral oder i.m. verabreichtem 1,25(OH)₂D₃ auf den Mineralstoffhaushalt und den 1,25(OH)₂D₃-Gehalt im Serum an nicht trächtigen, nicht laktierenden Kühen. Sie verabreichten hierzu einmalig 500 µg 1,25(OH)₂D₃ entweder i.m. oder per os. Dabei war zu sehen, dass Höhe und Verlauf des Serumcalciumspiegels durch die Applikationsart nicht beeinflussbar waren. Jedoch war die Höchstmenge des 1,25(OH)₂D₃ im Serum nach i.m. Applikation fünfmal höher als nach oraler Verabreichung.

YAMAGISHI et al. versuchten 2005 die kombinierte Verabreichung von 1,25(OH)₂D₃ mit 25 mg Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) um das Problem der Bestimmung des Geburtszeitpunktes zu umgehen. 1,25(OH)₂D₃ wurde hierbei mit 1 µg pro kg Körpergewicht individuell dosiert. Die Testsubstanz wurde ein bis zwei Tage vor dem errechneten Geburtstermin einmalig i.m. verabreicht. Sie erzielten damit gute Ergebnisse, denn von den behandelten Tieren entwickelte kein Tier Milchfieber, während in der Kontrollgruppe 20 % der Tiere erkrankten.

In jüngerer Zeit untersuchten YAMAGISHI et al. (2009) eine neue Applikationsform zur Verabreichung von 1,25(OH)₂D₃ beim Rind. Die transdermale Applikation von 1,25(OH)₂D₃ über ein Pflaster ist aus der Humanmedizin schon länger bekannt. Hier wird es bei an Psoriasis erkrankten Patienten eingesetzt (RIZOVA & CORROLLER, 2001). YAMAGISHI et al. befestigten jeweils ein Pflaster, das 5 mg 1,25(OH)₂D₃ enthielt, an der ventralen Schwanzseite von Jersey Jungrindern für die Dauer von 2 Tagen. Der Serumcalciumspiegel zeigte für die Dauer von 5 Tagen einen deutlich höheren Verlauf gegenüber der Kontrollgruppe.

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht über einige Versuche zur Prophylaxe der Gebärpause mittels 1,25(OH)₂D₃.

Tabelle 2.2: Übersicht über einige Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause des Rindes mittels $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Anwendungsmodus von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	Effekt oder Ergebnis	Quelle
600 µg/Tier i.m. 24 h a.p. Wdh. mit 270 µg nach 2-3 Tagen bis zur Geburt	Mit der geringeren Dosierung, in 2-3 täglichen Intervallen wurde auch bei Kühen ohne vorhersagbaren Geburtstermin eine ausreichende Prophylaxe erzielt.	HOFFSIS et al. 1978
400 µg/Tier i.m. 5 Tage a.p. Wdh. nach 5 Tagen, falls noch keine Geburt	33 % FL in KG 0 % FL in BG	GAST et al. 1979
100 µg/Tier+400 µg $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ i.m. 1.) 5 Tage a.p., Wdh. alle 5 Tage bis zur Geburt 2.) 7 Tage a.p., Wdh. alle 7 Tage bis zur Geburt	100 % FL in KG 100 % FL bei Gruppe, die in 7-tägigem Intervall behandelt wurde. 0 % FL bei 5-tägigem Intervall.	CARSTAIRS et al. 1981
500 µg/Tier per os 1.) 24 h a.p. 2.) 1-3 Tage a.p. 3.) 4-5 Tage a.p.	0 % FL in KG, aber Hypocalcämie Nur bei Applikation 1-3 Tage vor der Geburt, konnte eine Hypocalcämie verhindert werden.	HOVE & KRISTIANSEN 1982
1.) 500 µg/Tier i.m. 2.) 500 µg/Tier per os Wurde an nicht trächtige Kühe verabreicht.	Beide Applikationsformen verursachen denselben Serumcalciumspiegel, allerdings ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum bei per os Verabreichung nur um ein Fünftel angestiegen.	HOVE et al. 1983
1 µg/kg KGW + 25 mg Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ i.m. 1-2 Tage a.p.	20 % FL in KG 0 % FL in BG	YAMAGISHI et al. 2005
5 mg/Tier über ein transdermales Patch verabreicht (ventrale Schwanzseite), an Färsen getestet, Patch wurde für die Dauer von 2 Tagen angebracht.	Signifikanter Anstieg des Calciums und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum verglichen mit der Kontrolle. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird über die Haut aufgenommen.	YAMAGISHI et al. 2009

Zeichenerklärung : FL : Festliegen, KG: Kontrollgruppe, BG: Behandlungsgruppe

1,25(OH)₂D₃ ist auch in sogenannten calcinogenen Pflanzen in glycosidisch gebundener Form enthalten. Diese Pflanzen, hier sind besonders *Solanum glaucophyllum* und *Trisetum flavescens* (Goldhafer) zu nennen, sind in einigen Studien zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese eingesetzt worden (siehe 2.6). Nachfolgend soll deshalb kurz auf die calcinogenen Pflanzen eingegangen werden.

2.4 Calcinogene Pflanzen

Als calcinogene Pflanzen werden verschiedene Vertreter aus der Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*) und der Süßgräser (*Gramineae*) bezeichnet, die natürlicherweise aktive Metaboliten des Vitamin D₃, also auch 1,25(OH)₂D₃ enthalten. Nach übermäßiger oraler Aufnahme dieser Pflanzen über längere Zeit kommt es zu Symptomen, die denen einer Vitamin D₃- Intoxikation bzw. einer Kalzinose sehr ähneln. Wichtig zu erwähnen sind in diesem Zusammenhang *Solanum glaucophyllum*, *Solanum torvum*, *Solanum esuriale*, *Solanum verbascifolium*, *Cestrum diurnum* und *Nierembergia veichtii* als Vertreter der Nachtschattengewächse, *Trisetum flavescens* (Goldhafer) und *Stenotaphrum secundatum* aus der Familie der Süßgräser. Praktische Relevanz hinsichtlich des Einsatzes zur Milchfieberprophylaxe haben jedoch nur *Solanum glaucophyllum* – welches auch in der vorliegenden Studie eingesetzt wurde- sowie *Trisetum flavescens*. Daher soll im Folgenden nur auf diese beiden Pflanzen näher eingegangen werden.

2.4.1 *Trisetum flavescens*

Trisetum flavescens, das zur Familie der Süßgräser (*Gramineae*) gehört, trägt wegen seiner goldgelben Ähren den deutschen Namen Goldhafer. In den Bergregionen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz wächst der Goldhafer in Höhenlagen ab 700 m auf mäßig feuchten, kalk- und nährstoffreichen Böden. Bei dauerhafter Aufnahme durch das Rind ist der Goldhafer für die Entstehung von Kalzinosen verantwortlich (DIRKSEN et al., 1971; DIRKSEN et al., 1974; DIRKSEN et al., 1981; RAMBECK & ZUCKER, 1986). SIMON (1980) beobachtete erste Anzeichen einer Kalzinose nach längerer Verfütterung (5 Monate) einer Ration mit 10 % Goldhafer. Beim Auftreten von Lahmheiten,

steifem Gang und Entwicklungsstörungen muss aber auch schon bei einem Goldhaferanteil von nur 5 % der Gesamtration differentialdiagnostisch an Kalzinose gedacht werden (DIRKSEN, 2002a). RAMBECK et al. zeigten 1981 auf, dass die aktiven Vitamin D₃- Metaboliten im Goldhafer vorwiegend in den Blättern vorkommen, während in den Stängeln, Samen, Blüten und Wurzeln kaum Aktivität nachzuweisen war. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass neben Vitamin D₃ (RAMBECK et al., 1987), auch dessen aktiver Metabolit 1,25(OH)₂D₃ in den Pflanzen zu finden ist (RAMBECK & ZUCKER, 1985). Die Menge der von den Pflanzen produzierten Vitamin D₃- Metaboliten ist dabei von der Intensität der UV- Bestrahlung abhängig (ZUCKER et al., 1980).

2.4.2 *Solanum glaucophyllum*

Solanum glaucophyllum, das früher auch als *Solanum malacoxylon* Sendtner bezeichnet wurde, wurde erstmals 1846 von Sendtner in Brasilien beschrieben. Die Pflanze wächst als Strauch mit hohen Zweigen (1,5 bis 3m), trägt lilafarbene Blüten und ist vor allem in Südamerika beheimatet. Sie wächst bevorzugt auf tonhaltigen Böden, die zeitweilig überflutet sind.



Abb. 2.1: *Solanum glaucophyllum*

Die Pflanze zeigt ein langsames, extensives Wachstum und ist durch ihr tief reichendes Wurzelsystem sehr widerstandsfähig gegenüber Unkrautvernichtungsmitteln und Bodenkultivierung (OKADA et al., 1977; TOKARNIA et al., 2002). In Gebieten mit endemischem Wachstum wird die Pflanze als limitierender Faktor für die Freilandhaltung von Rindern angesehen, da sie die Ursache der gefürchteten Rinderkalzinose „Enteque seco“ in Argentinien ist (WORKER & CARRILLO, 1967).

Zur genaueren Identifizierung seiner biologischen Wirkeigenschaften konnte WASSERMAN (1974) bei Fütterungsversuchen mit Hühnern, deren 1 α -Hydroxylase mittels Strontium inhibiert war, zeigen, dass nach Verfütterung von *S. glaucophyllum* eine gesteigerte Calciumabsorption aus dem Darm stattfand.

Diese Steigerung der Calciumabsorption war auf eine durch Vitamin D induzierte Neusynthese von CaBP zurückzuführen. In weiteren Untersuchungen konnte die Ähnlichkeit der *S. glaucophyllum*- Substanz zu Vitamin D₃ festgestellt werden. Im Gegensatz zu Vitamin D₃, welches ätherlöslich ist, ist der Extrakt aus *S. glaucophyllum* wasserlöslich. WASSERMAN et al. konnten 1976 zeigen, dass diese Eigenschaft durch eine glycosidische Bindung hervorgerufen wird. Nach Spaltung dieser Bindung wird 1,25(OH)₂D₃ frei (HAUSSLER et al., 1976). Neben 1,25(OH)₂D₃ konnten ESPARZA et al. (1982) in den Blättern von *S. glaucophyllum* auch Vitamin D₃ und 25(OH)D₃ nachweisen. Alle Metaboliten liegen in der Pflanze glycosidisch gebunden vor. Da bislang ausschließlich Wirkungsmechanismen mit freien Vitamin D₃- Metaboliten beschrieben wurden, entstand die Frage, inwieweit das glycosidisch gebundene 1,25(OH)₂D₃ an den VDR binden kann. In Versuchen von PETELIK et al. (1976) zeigte sich, dass radioaktiv markiertes 1,25(OH)₂D₃ schneller an diesen Rezeptor bindet als das Glucosid. Wird allerdings der Extrakt aus *S. glaucophyllum* zuvor mit Glucosidase versetzt, welche den Zuckerrest bereits extrakorporal abspaltet, kann das nun freie 1,25(OH)₂D₃ aus *S. glaucophyllum* ebenso schnell an den Rezeptor binden wie der reine Metabolit. Körpereigene Glucosidasen im Darm von Mensch und Tier scheinen notwendig um eine Bindung an den Rezeptor zu ermöglichen. LADIZESKY et al. (1974) konnten diese Annahme durch Untersuchungen an Schafen, Ratten und Kaninchen bestätigen. Durch orale Verabreichung des Extraktes konnte, verglichen mit der parenteralen Applikation eine stärkere Hypercalcämie und Hyperphosphatämie hervorgerufen werden.

Die ständige Aufnahme großer Mengen calcinogener Pflanzen kann zum Krankheitsbild der Kalzinose führen.

2.5 Kalzinose

Werden über längere Zeit oder auch einfach größere Mengen calcinogener Pflanzen aufgenommen, kann es zu einer systemischen Kalzinose, also einer Verkalkung insbesondere des Weichteilgewebes kommen (MELLO, 2003). Erste klinische Anzeichen sind Abmagerung, Rückgang der Milchleistung bei Kühen, ein leicht aufgebogener Rücken, Bewegungs- und Haltungsstörungen wie Vorbiegigkeit, Trippeln auf der Stelle, vermehrtes Liegen und eine erhöhte

Herzfrequenz und Atemtätigkeit (DIRKSEN et al., 1970). Pathologisch-anatomische und pathologisch-histologische Untersuchungen zeigen ausgeprägte Weichteilverkalkungen, vor allem in Endocard, in den Arterien, in den Lungen, in den Nieren und in den Beugesehnen der Vorderextremitäten (WORKER & CARRILLO, 1967; HÄNICHEN et al., 1970). Die Kalzinose durch Aufnahme von Solanaceen tritt weltweit auf, außer den Rindern sind weitere Tiere betroffen (siehe Tabelle 2.3).

Tabelle 2.3: Vorkommen von Kalzinosen (nach Greissinger, 2004)

Tier	Regionale Bezeichnung	Land	Auslösende Pflanze
Rind, Schaf	Enteque seco	Argentinien	<i>Solanum glaucophyllum</i>
Schwein	Spontaneous S.g.-poisoning	Argentinien	<i>Solanum glaucophyllum</i>
Rind	Espichamento	Brasilien	<i>Solanum glaucophyllum</i>
Schaf	Calcinosis	Brasilien	<i>Nierembergia veichtii</i>
Schaf	Calcinosis	Südafrika	<i>Solanum verbascifolium</i>
Rind, Ziege	Naalehu disease	Hawaii	<i>Cestrum diurnum</i>
Rind, Ziege	Manchester wasting disease	Jamaika	<i>Solanum torvum</i>
Rind, Pferd	C.d. - poisoning	Florida (USA)	<i>Cestrum diurnum</i>
Schaf	Humpy back	Australien	<i>Solanum esuriale</i>
Rind, Pferd	Weidekrankheit	Österreich	<i>Trisetum flavescens</i>
Rind, Ziege	Enzootische Kalzinose	Schweiz	<i>Trisetum flavescens</i>
Rind, Schaf	Enzootische Kalzinose	Deutschland	<i>Trisetum flavescens</i>

2.6 Einsatz von calcinogenen Pflanzen in der Milchfieberprophylaxe

Nach Entdeckung und Untersuchung der Wirkprinzipien von Vitamin D₃-Metaboliten in einigen calcinogenen Pflanzen, versuchte man sich diese in der Tiermedizin nutzbar zu machen. Ein großer Vorteil besteht in der schnellen Verfügbarkeit von 1,25(OH)₂D₃, da dieses bereits in der Pflanze vorhanden ist und nicht erst vom Körper synthetisiert werden muss. Zudem ist die Herstellung von synthetischem 1,25(OH)₂D₃ sehr teuer. Besonders beim Rind traten die Überlegungen für einen präventiven Einsatz sehr früh in den Vordergrund, da die hypocalcämische Gebärfähigkeit mit sehr großen wirtschaftlichen Verlusten verbunden ist. Somit besteht sowohl an einer erfolgreichen Therapie, als auch an einer erfolgreichen Prophylaxe großes Interesse. Ein großer Nachteil hingegen sind die teils stark schwankenden Gehalte an Vitamin D- Metaboliten, so dass die Standardisierung einen gewissen Aufwand erfordert.

KUNZ untersuchte 1977 die Wirkung eines wässrigen Extraktes von *S. glaucophyllum* auf den Ca-, P- und Mg- Gehalt im Serum, nach intravenöser und nach oraler Applikation an 4 nicht trächtigen, trockenstehenden Kühe. Er verabreichte dabei einmalig 10 bis 50 g der getrockneten Blätter als Extrakt. Sowohl bei der oralen als auch parenteralen Applikation des wässrigen *S. glaucophyllum*- Extraktes konnte ein Anstieg des P-Gehaltes bereits nach 12 bis 24 Stunden festgestellt werden, das Maximum des Phosphorgehaltes im Serum wurde dabei 48 Stunden nach der Applikation erreicht. Die Maxima lagen dabei um 110 % bis 150 % über den Ausgangswerten. Der Calcium- und Magnesiumgehalt im Serum zeigte bei dieser Studie keinerlei Veränderungen. Die Autoren stellten nach oraler Verabreichung einen größeren Effekt als nach parenteraler Verabreichung fest. Sie führten dieses Ergebnis auf die Tatsache zurück, dass die Substanz nach oraler Applikation direkt an ihren Wirkungsort, in die Mukosazellen der Darmschleimhaut gelangt, während nach intravenöser Verabreichung möglicherweise eine rasche Ausscheidung erfolgt.

ROUX et al. (1979) konnten bei den von ihnen durchgeführten Versuchen an Jerseykühen und Holstein-Friesian Kühen neue Erkenntnisse gewinnen. Sie verabreichten an 4 Jerseykühe tägl. 35 g pulverisierte Blätter von *S. glaucophyllum*, die in einem Liter Wasser gelöst waren. Von Tag 8 bis Tag 2 vor

dem erwarteten Geburtstermin wurde diese Lösung per os an die Kühe appliziert. Gegenüber den Kontrolltieren war ein deutlicher Anstieg von Calcium und Phosphor im Serum zu sehen, der bis 4 Tage nach der letzten Applikation anhielt. Der Gehalt an Calcium und Phosphor im Kolostrum, war während der ersten beiden Melkzeiten gegenüber dem der Kontrollgruppe deutlich erhöht. Noch nie zuvor konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung Einfluss auf den Mineralstoffgehalt im Kolostrum hat. In einem weiteren Versuch wurden pro Tier tägl. 25 g des pulverisierten Extraktes verabreicht. Der pulverisierte Extrakt wurde in diesem Versuch in die Ration gemischt und an die 19 Holstein-Friesian Kühe von Tag 6 bis Tag 3 vor dem erwarteten Geburtstermin verfüttert. Bei allen 23 behandelten Tieren aus den beiden Versuchen konnte eine Hypocalcämie und Hypophosphatämie zum Zeitpunkt der Geburt verhindert werden.

KUNZ und HÄNICHEN (1981) führten Untersuchungen zum Einsatz von *S. glaucophyllum* mit besonderem Blick auf die systemische Toleranz der Tiere durch. Nach Verfütterung von *S. glaucophyllum* in Dosierungen von 10 g und 20 g über fünf Tage kam es nach 19 bis 31 Tagen zu Verkalkungen unterschiedlichen Grades in der Aorta abdominalis. Sie schlussfolgerten daraus, dass alle bisher eingesetzten Dosierungen von *S. glaucophyllum* mit einem hohen Risiko an Weichteilverkalkungen verbunden waren.

FRICKE (1985) untersuchte den Einfluss von nicht-calcinogenen Dosen von *S. glaucophyllum* in der Milchfieberprophylaxe. Bei Verabreichung von 15 g *S. glaucophyllum* zwei Tage vor und einen Tag nach der Geburt war eine prophylaktische Wirkung zu sehen, wobei die einmalige Gabe vor der Geburt nicht ausreichte. Klinische Erscheinungen einer Kalzinose konnte FRICKE bei dieser Dosierung nicht feststellen.

BUCHELT setzte 1986 ebenfalls eine calcinogene Pflanze in einer Studie zur Prävention der hypocalcämischen Gebärfähigkeit ein. In dieser Feldstudie an 16 Braunviehkühen setzte er Cobs aus *Trisetum flavescens* ein, die die Tiere vom 6. Tag vor der Geburt bis zum 2. Tag nach der Geburt zu fressen bekamen. Allerdings war es auch hier schwierig den exakten Geburtstermin vorherzusagen. Um eine ausreichende Prophylaxe zu gewährleisten, sollten die Tiere täglich 5 bis 6 kg Cobs aufnehmen. Doch diese Menge wurde von den Tieren nicht

aufgenommen, zusätzlich bestand das Problem sicherzustellen, dass nur die zu behandelnden Tiere, die zu verabreichende Ration vom Futtertisch aufnehmen.

HORST et al. (2003) hatten einen neuen Versuchsansatz und setzten geringe Mengen *S. glaucophyllum* in Kombination mit einer ansäuernden Ration ein. An 9 Jerseykühe verfütterten sie eine ansäuernde Ration während der Trockenstehphase. An 5 Kühe wurden zusätzlich zur Ration täglich 2 bis 3 g *S. glaucophyllum* Blätter in einem Gelatinebolus verabreicht. Der Gelatinebolus wurde durchschnittlich von Tag 6 vor der Geburt bis 14 Tage nach der Geburt verabreicht. Kühe, die zusätzlich mit *S. glaucophyllum* gefüttert wurden, hatten im peripartalen Zeitraum signifikant höhere Calciumwerte im Serum gegenüber den Kontrolltieren. Keines der 4 Kontrolltiere erkrankte an Milchfieber. Eine Kuh aus der *S. glaucophyllum* Gruppe erkrankte am 8. Tag nach Ende der Verabreichung von *S. glaucophyllum* an Milchfieber. HORST et al. (2003) nahmen an, dass eine Behandlung mit *S. glaucophyllum* den eigenen Calcium-Homöostase Mechanismus der Kuh „ersetzt“, so dass ein plötzliches Absetzen der Behandlung dazu führt, dass der eigene Mechanismus noch nicht vollständig angelaufen ist. Sie schlussfolgerten daraus, dass *S. glaucophyllum* in einer ausschleichenden Dosierung durchaus dazu geeignet ist, eine peripartale Hypocalcämie zu vermeiden.

In einem erneuten Versuch *S. glaucophyllum* prophylaktisch einzusetzen, wurden 5 g eines *S. glaucophyllum*-Produktes 24 bis 72 h a.p. verabreicht. Bei Applikation in diesem Zeitfenster konnte eine ausreichende Prophylaxe erzielt werden. Allerdings war die Gabe von *S. glaucophyllum* an ein enges Zeitfenster gekoppelt, so dass die Problematik der Geburtszeitpunktbestimmung nicht umgangen werden konnte (SCHLÖTTERER-WIESER, 2008).

Um das Problem der Vorhersage des genauen Geburtszeitpunktes zu umgehen, wäre ein Präparat mit langer Wirkdauer, wie es bereits in der Parasitenbekämpfung beim Wiederkäuer eingesetzt wird ideal (ZIMMERMAN & HOBERG, 1988). Ebenso wünschenswert wäre ein Präparat, das nur einmalig verabreicht werden muss, um den zeitlichen und arbeitstechnischen Aufwand für den Landwirt so gering wie möglich zu halten.

2.7 Anwendung von Retardformen in Bolusform beim Rind

Retardformen werden dazu verwendet eine bestimmte Menge Wirkstoff über einen langen Zeitraum abzugeben, so dass ein gewünschter Wirkstoffspiegel auch bei einmaliger Verabreichung lange erhalten werden kann (BAGGOT, 1988). Dies geschieht entweder durch eine kontinuierliche Freigabe des Wirkstoffes oder durch eine pulsatile Freigabe der Wirksubstanz in festgelegten Zeitintervallen. Aktuell werden Boli mit retardierender Wirkung vornehmlich im Bereich der Parasitenbekämpfung und zur Verabreichung ausgewählter Spurenelemente verabreicht (BAGGOT, 1988; CARDINAL, 2000). Die verabreichten Boli gelangen nach dem Abschlucken entweder in den Pansen oder in die Haube, weshalb an dieser Stelle kurz auf die Verdauungsphysiologie dieser Vormägen eingegangen werden soll. Genauere Informationen sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.

Die Vormägen des Wiederkäuers sind nach BAGGOT (1988), sehr gut für die Eingabe von retardierenden Boli geeignet. Die mittlere Verweildauer der Futterpartikel in den Vormägen beträgt, abhängig von der Struktur des Futters, zwischen 60 und 80 h (BALSH & CAMPLING, 1965). Die Passagezeit durch den Magen-Darm-Trakt des Wiederkäuers dauert im Durchschnitt 3-3,5 Tage, die meiste Zeit davon verweilt der Futterbrei im Pansen (CARDINAL, 2000). Die Physiologie der Verdauung des Wiederkäuers hat auch einen entscheidenden Einfluss auf die äußere Gestaltung des Bolus.

Die meisten Boli gleichen sich in ihrer Form, meist handelt es sich um längliche, zylindrische Formen, die mit Hilfe eines Boluseingebers verabreicht werden. Um zu gewährleisten, dass der Bolus beim Wiederkauen nicht regurgitiert werden kann und somit von der Kuh eventuell ausgespuckt wird, wurden zwei verschiedene Ansätze entwickelt. LABY (1974) entwickelte einen Bolus mit „Flügeln,. Diese Flügel liegen dem Bolus während der Verabreichung glatt an, so dass die Passage durch den Ösophagus nicht behindert wird. Durch das Milieu im Pansen wird die lösliche Befestigung der Flügel zersetzt. Durch das Aufstellen der Flügel am Bolus erreicht dieser einen größeren Durchmesser als der des Ösophagus, womit eine Regurgitation des Bolus verhindert wird. EDWARDS et al. (1989) fanden hingegen heraus, dass der Bolus bei einer Dichte von

mindestens 2,00 auf dem Boden des Pansens liegen bleibt und somit nicht regurgitiert werden kann.

Ein weiteres Kriterium für die Entwicklung eines Bolus stellt die gewünschte Wirkdauer dar, hierbei wird zwischen einer kurzen Wirkdauer mit 3-5 Tagen und einer langen Wirkdauer von bis zu 180 Tagen unterschieden. Boli mit kurzer Wirkdauer werden meistens bei der Verabreichung von therapeutischen Substanzen eingesetzt, hier kann als Beispiel die Verabreichung von Sulfonamiden genannt werden. Solch ein Bolus findet in den USA Anwendung und gibt den Wirkstoff über einen Zeitraum von 72 h ab. (Albon SR Pfizer®).

Länger wirkende Boli dienen zur Bekämpfung von Parasiten oder zur kontinuierlichen Versorgung der Tiere mit Spurenelementen für die Dauer einer kompletten Weideperiode (CARDINAL, 2000).

Die verschiedenen derzeit in der Praxis angewendeten retardierenden Boli basieren grundsätzlich auf 4 unterschiedlichen Prinzipien, wodurch die verlängerte Wirkung erreicht wird:

- Auflösbare Systeme
- Vorratssysteme
- Osmotisch wirkende Systeme
- Matrixsysteme

Zu den auflösbaren Systemen gehören beispielsweise die löslichen Boli, die aus „Glas“ hergestellt sind. Dieses Glas besteht aus Phosphorpentoxid, Natriumoxid und Calciumoxid und kann Spurenelemente in geringen Mengen für die Dauer von einem Jahr abgeben (DRAKE, 1982). Auf dem gleichen Prinzip basiert die Anwendung des Polyether-Antibiotikums Monensin zur Bekämpfung der Kokzidiose des Rindes. Das Monensin ist hier an aliphatische Polyester gebunden, die sich in wässrigem Milieu langsam auflösen und dabei allmählich das Monensin freigeben (CONRAD & SKINNER, 1988).

Als Beispiel für ein Vorratssystem kann der Paratect® Bolus gesehen werden. Der Bolus besteht aus einem äußeren Zylinder, der aus rostfreiem Stahl besteht. Beide Enden des Zylinders sind mit einer Polyethylenscheibe, die mit Cellulosetriacetat imprägniert ist, bedeckt. Der Inhalt des Bolus besteht aus Propylenglykol, das mit

dem eigentlichen Wirkstoff vermischt wurde. Der so hergestellte Bolus gibt den Wirkstoff durch die imprägnierte Polyethylenscheibe für die Dauer von etwa 90 Tagen ab (CARDINAL, 2000). Vorratssysteme bieten eine gute Kontrolle der Wirkstofffreisetzung, aber ihre Anwendung ist gewöhnlich auf Wirkstoffe mit hoher Wasserlöslichkeit beschränkt (CARDINAL, 2000). Deshalb wurde ein System entwickelt, dessen Wirkstofffreisetzung weitgehend unabhängig von der Wasserlöslichkeit der aktiven Substanz ist.

Durch ein osmotisch wirkendes System können auch nahezu wasserunlösliche Stoffe mit Hilfe eines Bolus kontinuierlich abgegeben werden. Der Ivomec® SR bolus zur Bekämpfung von Parasiten funktioniert nach diesem System. Der Bolus ist von einer semipermeablen Kapsel umschlossen, die vorwiegend aus Celluloseacetat besteht. Im Inneren dieser Kapsel befindet sich eine osmotisch wirkende Tablette. Vor dieser Tablette befindet sich eine Trennschicht, die die Tablette von der Wirkstoffschicht trennt. Bei Kontakt mit Wasser schwillt die Tablette an, wodurch der sich verflüssigende Wirkstoff durch mehrere kleine Öffnungen nach außen gedrängt wird. Der Bolus wird durch Elemente, die die Dichte erhöhen auf dem Boden des Pansens gehalten (CARDINAL, 2000).

Die Systeme mit einer Matrix funktionieren nach einem anderen Prinzip. Auf einer nicht biologisch abbaubaren Polymermatrix befindet sich der gleichmäßig verteilte feste Wirkstoff (BOETTNER et al., 1988). Die Matrix ähnelt in ihrer Form der eines großen Blattes. Durch Aufrollen des Blattes entsteht ein Zylinder, der dann als Bolus ohne Probleme appliziert werden kann. Nach Eingabe dieses Bolus entfaltet dieser im Pansen wieder seine ursprüngliche Form, und ist so auch vor der Regurgitation geschützt. Der Paratect flex® bolus funktioniert nach diesem Prinzip, dabei wird Moranteltartrat, das zur Bekämpfung von Rund- und Bandwürmern eingesetzt wird, über einen Zeitraum von etwa 90 Tagen abgegeben. Diese Art von Bolus hat zusätzlich den Vorteil, dass die Matrix während der Wirkdauer erhalten bleibt und danach in kleine Stücke zerfällt und somit vom Rind ausgeschieden werden kann (BOETTNER et al., 1988; CARDINAL, 2000).

3 Material und Methoden

3.1 Studienziel

Die vorliegende Arbeit hatte das Ziel die Wirkung verschiedener Präparationen und Retardformen eines Extraktes von *Solanum glaucophyllum*, welches natürlicherweise den aktiven Metaboliten von Vitamin D₃ enthält, an erwachsenen weiblichen Jungrindern zu untersuchen. Hierzu wurden verschiedene Parameter sowohl im Serum als auch im Urin nach einmaliger Applikation zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Damit sollte die Wirksamkeit und Wirkdauer der verschiedenen Präparationen untersucht werden. Zum Vergleich wurden sowohl synthetisches 1,25(OH)₂D₃, als auch eine nicht retardierte Form des Solanumextraktes (Solbone) und eine Kombination aus einer retardierten und nicht retardierten Form eingesetzt. Eine Gruppe von Tieren diente zudem als Kontrollgruppe. Die Studie wurde in 3 Versuchsdurchgänge unterteilt.

3.2 Versuchstiere

Für die vorliegende Studie standen Färsen verschiedener Rassen im Alter von eineinhalb bis zwei Jahren zur Verfügung. Dabei waren Tiere der Rassen Braunvieh, Fleckvieh, Holstein Friesian und Kreuzungen zwischen Holstein Friesian und Fleckvieh vertreten. Die Tiere waren in einem Boxenlaufstall untergebracht, welcher durch ein Fressgitter vom Stallgang abgetrennt war. Eine Hälfte war mit Stroh eingestreut, die andere Hälfte bestand aus Betonspaltenboden. Gefüttert wurden die Tiere einmal täglich mit einer Total Mixed Ration (TMR), bestehend aus Grassilage, Maissilage, Heu, Gerstenstroh, Rapsschrot, Sojaschrot und einem Mineralfutter. Tabelle 3.1 zeigt, die in der Studie eingesetzten Tiere.

Tabelle 3.1: Rasse, Geburtsdatum und Reproduktionsstatus der Tiere

Ohrmarke	Rasse	Geb.Datum	Reprostatus
4816	Braunvieh	20.11.2007	trächtig
4819	Kreuzung	02.12.2007	leer
4823	Kreuzung	10.12.2007	leer
69117	Kreuzung	09.07.2007	leer
69095	Kreuzung	04.09.2007	trächtig
4809	Fleckvieh	31.10.2007	trächtig
4810	Kreuzung	01.11.2007	leer
69104	Kreuzung	20.09.2007	leer
69082	Kreuzung	11.08.2007	trächtig
69109	Fleckvieh	30.09.2007	trächtig
99646	Kreuzung	03.02.2008	leer
99649	Kreuzung	10.02.2008	leer
4839	Kreuzung	25.01.2008	leer
69090	Kreuzung	29.08.2007	trächtig
69116	Holstein-Friesian	08.10.2007	leer
69114	Holstein-Friesian	05.10.2007	leer
29295	Kreuzung	25.05.2007	trächtig
69110	Kreuzung	01.10.2007	trächtig
4826	Fleckvieh	14.12.2007	leer
69079	Kreuzung	07.08.2007	leer
69113	Fleckvieh	04.10.2007	leer
69105	Kreuzung	04.09.2007	trächtig
69100	Kreuzung	11.09.2007	trächtig
69087	Kreuzung	24.08.2007	leer
4838	Holstein-Friesian	24.01.2008	leer
99644	Holstein-Friesian	02.02.2008	leer
4836	Kreuzung	22.01.2008	leer
99652	Holstein-Friesian	25.02.2008	leer
99654	Kreuzung	08.03.2008	leer
99648	Kreuzung	05.02.2008	leer

3.3 Testsubstanz

Bei den Retardformen und der nicht retardierten Form handelt es sich um einen wasserlöslichen Extrakt aus der Pflanze *S. glaucophyllum* (HERBONIS AG, 4302 Augst, Schweiz). Die Testsubstanzen lagen entweder in Pulver- (Retardform 3, 4, und 5) oder Tablettenform (Retardform 1 und 2) vor. Bei den Retardformen 1 und 2 handelt es sich um eine Formulierung, bei der der Wirkstoff in das Polymer Eudragit eingearbeitet ist. Bei Kontakt des Polymers mit dem Pansensaft quillt dieses auf und gibt so den gut löslichen Extrakt frei. Die Retardformen 3 bis 5 sind gecoatete Formen. Im Pansen muss erst die Hülle aufgelöst werden, damit der gut wasserlösliche Wirkstoff frei wird. Bei Retardform 3 ist die retardierende Komponente Cellulose. Die Auflösung dieser Komponente erfolgt beim Wiederkäuer mit Hilfe des Enzyms Cellulase. Bei der Retardform 4 wurde die modifizierte Cellulose Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) als retardierende Komponente eingesetzt. Diese Cellulose wirkt als Membran und gibt den Wirkstoff durch Diffusion frei. Bei der Retardform 5 ist die retardierende Komponente Palmöl. Der Gehalt am aktiven Vitamin D₃- Metaboliten 1,25(OH)₂D₃ pro mg Testsubstanz unterscheidet sich innerhalb der Retardformen nicht, 10 mg Solbone enthalten 500 ng analytisch bestimmtes 1,25(OH)₂D₃. Die nicht retardierende Form lag ebenfalls in Tablettenform vor. Das synthetische 1,25(OH)₂D₃ (CERBIOS Pharma SA, 6917 Barbengo, Schweiz) lag in gelöster, flüssiger Form vor. Um es applizieren zu können musste es auf einen geeigneten Trägerstoff übertragen werden. Als Trägerstoff wurde feines Maismehl verwendet, das mit Äther versetzt wurde, danach konnte das errechnete Volumen des gelösten 1,25(OH)₂D₃ hinzu gegeben werden. Unter ständigem Rühren verdampfte der Äther, so dass das mit 1,25(OH)₂D₃ angereicherte Maismehl als Rückstand zurückblieb.

3.4 Dosierung

Die Dosierung aller Testsubstanzen wurde auf 10 mg pro kg Körpergewicht (KGW) und Tier festgelegt (FRITZ, unveröffentlicht). Für die vorliegenden Ergebnisse und Untersuchungen muss beachtet werden, dass der Gehalt einer eigens für die Extraktgewinnung gezüchteten *Solanum glaucophyllum*-Pflanze mit bis zu 50 mg 1,25(OH)₂D₃ pro kg Pflanzentrockensubstanz wesentlich höher ist,

als solches der wild wachsenden Pflanzen. Bei ihnen findet sich eine Variation des Gehalts zwischen 0 und 20 mg pro kg Trockensubstanz in Abhängigkeit von Standort und Bodenverhältnissen (BACHMANN, pers. Mitteilung). Weiterhin muss beachtet werden, dass das in den Pflanzen vorhandene $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in glycosidisch gebundener Form vorliegt und diese Bindung im Pansen erst gespalten werden muss, bevor das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ frei wird. Die in dieser Studie verwendeten Substanzen enthalten 500 ng analytisch bestimmtes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pro 10 mg Testsubstanz. Es werden nach oben angegebener Dosierung also 500 ng $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pro kg Körpergewicht verabreicht.

Die Retardform 1, welche in Tablettenform vorlag, enthielt 270 mg Testsubstanz pro Tablette. Nachdem die Tiere gewogen wurden, konnte die Anzahl der zu verabreichenden Tabletten errechnet werden, dabei wurde auf- bzw. abgerundet, so dass ganze und auch halbe Tabletten gegeben wurden. Die Retardform 2 lag ebenfalls in Tablettenform mit 270 mg Testsubstanz pro Tablette vor. Auch hier wurde die dementsprechende Anzahl der Tabletten analog zur Vorgehensweise bei der Retardform 1 berechnet. Die nicht retardierende Form Solbone lag auch in Tablettenform vor. Hier enthielt eine Tablette 445 mg Testsubstanz. Auch hier wurde die entsprechende Menge der zu verabreichenden Tabletten pro Tier berechnet. Die in Versuch 2 (siehe Tabelle 3.2) eingesetzte Kombination bestand aus der nicht retardierten Form Solbone und der retardierten Form Retard 2 in einer Dosierung von je 5 mg/kg KGW. Alle anderen eingesetzten Retardformen und das auf Maismehl angereicherte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ lagen in Pulverform vor, womit die zu applizierende Menge für jedes Tier genau eingewogen werden konnte.

Die in den 3 Versuchen verwendeten Testsubstanzen und deren Abkürzungen sollen im Folgenden tabellarisch aufgeführt werden.

Tabelle 3.2: Testsubstanz und deren Abkürzung

Testsubstanz	Abkürzung
Retard 1	R1
Retard 2	R2
Retard 3	R3
Retard 4	R4
Retard 5	R5
Solbone	SOL
Kontrolle	K
1,25-Dihydroxycholecalciferol	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$
Kombination	KO

3.5 Applikation

Um einzelne Tabletten oder Pulver an die Rinder verabreichen zu können wurde die jeweils abgewogene oder abgezählte Menge in eine Hartgelatine kapsel (CAPSULA GmbH, Ratingen) aus Schweinegelatine, mit einem Volumen von 23,9 ml, einer Länge von 7 cm und einem Durchmesser von 2,2 cm abgefüllt. Das restliche, in der Kapsel noch zur Verfügung stehende Volumen wurde mit Pektin (HERBAFOODS, 8002 Zürich, Schweiz) aufgefüllt. Die Kapseln der Kontrolltiere enthielten nur Pektin. Um die Zeit zu bestimmen, die die Gelatine kapsel zum Auflösen nach Eingabe in den Pansen benötigt, wurde vor der Studie ein Versuch im Labor durchgeführt. Dazu wurde eine vollständig mit Pektin gefüllte Kapsel in frischem Pansensaft (pH-Wert 5,8) im Schüttelwasserbad (VWR INTERNATIONAL GmbH, Darmstadt) bei einer konstanten Temperatur von 38 °C gleichmäßig bewegt. Nach einer Inkubationszeit von etwa 6 Minuten waren bereits erste Dellen an der Kapsel zu sehen und nach weiteren 11 Minuten war die Kapsel vollständig geöffnet und der Inhalt entleerte sich.

Die Applikation der Kapsel erfolgte jeweils einmalig am ersten Tag des Versuches mittels eines Boluseingebers, wobei in den Versuchen 1 und 2 der Eingaber Bovikal[®] (BOEHRINGER INGELHEIM, Ingelheim) eingesetzt wurde. Im Versuch 3 wurde hingegen der Boluseingaber V-Grip Bolus Dispenser No 64322[®] (GENESIS Manufacturing Ltd., Melksham, England) zum Eingeben verwendet.

3.6 Versuchsplan

Die Untersuchungen wurden in drei Versuchsdurchgänge unterteilt. In der Woche vor dem jeweiligen Versuchsbeginn wurden die Tiere gewogen (BAUMANN, Lauf-Gewichts-Waage, Typ 2001 S, Thiersheim). Die Versuche wurden nacheinander durchgeführt, zwischen Versuch 1 und Versuch 2 lagen zwei Wochen Zeit, zwischen Versuch 2 und 3 lagen vier Wochen Zeit. Einige Tiere wurden in mehreren Versuchen eingesetzt. Im Folgenden sollen die Daten der Tiere und die Einteilung der Tiere in die verschiedenen Versuche und Gruppen tabellarisch dargestellt werden.

Im Versuch 1 (V1) waren 3 Tiere beteiligt, die Retardform 1 erhielten. Dieser Vorversuch diente der Ermittlung der Wirkdauer und war für die weitere zeitliche Planung und Durchführung der weiteren Versuche wichtig. Hierbei sollte auch getestet werden, ob die Gewinnung von Spontanurin möglich war.

Tabelle 3.3: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in μg pro Tier aus *Versuch 1*

Versuch 1					
Ohrmarke	Rasse	Reprostatus	Substanz	Gewicht	Mit der Testsubstanz verabreichtes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$
4816	Braunvieh	trächtig	R1	487 kg	243,00 μg
4819	Kreuzung	leer	R1	543 kg	270,00 μg
4823	Kreuzung	leer	R1	502 kg	249,75 μg

Im Versuch 2 (V2) waren 25 Tiere beteiligt, die in Gruppen zu je fünf Tieren unterteilt wurden. Vier Gruppen wurde je eine unterschiedliche Testsubstanz (Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, Kombination) verabreicht, eine Gruppe diente als Kontrolle.

Tabelle 3.4: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in μg pro Tier aus *Versuch 2*

Versuch 2					
Ohrmarke	Rasse	Reprostatus	Substanz	Gewicht	Mit der Testsubstanz verabreichtes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$
69117	Kreuzung	leer	R2	576 kg	290,25 μg
69095	Kreuzung	trächtig	R2	539 kg	270,00 μg
4809	Fleckvieh	trächtig	R2	518 kg	256,50 μg
4830	Kreuzung	leer	R2	504 kg	249,75 μg
4810	Kreuzung	leer	R2	480 kg	243,00 μg
69104	Kreuzung	leer	SOL	595 kg	300,38 μg
69082	Kreuzung	trächtig	SOL	705 kg	311,50 μg
69109	Fleckvieh	trächtig	SOL	605 kg	300,38 μg
99646	Kreuzung	leer	SOL	475 kg	233,63 μg
99649	Kreuzung	leer	SOL	533 kg	267,00 μg

Ohrmarke	Rasse	Reprostatus	Substanz	Gewicht	Mit der Testsubstanz verabreichtes 1,25(OH) ₂ D ₃
4839	Kreuzung	leer	1,25(OH) ₂ D ₃	553 kg	276,50 µg
69090	Kreuzung	trächtig	1,25(OH) ₂ D ₃	598 kg	299,00 µg
69116	Holstein-	leer	1,25(OH) ₂ D ₃	546 kg	273,00 µg
69114	Holstein-	leer	1,25(OH) ₂ D ₃	524 kg	262,00 µg
29295	Kreuzung	trächtig	1,25(OH) ₂ D ₃	769 kg	384,50 µg
4819	Kreuzung	leer	KO	575 kg	286,38 µg
69113	Fleckvieh	leer	KO	596 kg	293,13 µg
69105	Kreuzung	trächtig	KO	640 kg	317,75 µg
69100	Kreuzung	trächtig	KO	655 kg	328,88 µg
69087	Kreuzung	leer	KO	587 kg	293,13 µg
4816	Braunvieh	trächtig	K	520 kg	0
4823	Kreuzung	leer	K	521 kg	0
69110	Kreuzung	trächtig	K	570 kg	0
4826	Fleckvieh	leer	K	573 kg	0
69079	Kreuzung	leer	K	603 kg	0

Im Versuch 3 (V3) waren 20 Tiere (vier Gruppen zu je fünf Tieren) beteiligt, allen Tieren wurde eine Testsubstanz (Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5) verabreicht, der Versuch wurde ohne Kontrollgruppe durchgeführt.

Tabelle 3.5: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des 1,25(OH)₂D₃ in µg pro Tier aus *Versuch 3*

Versuch 3					
Ohrmarke	Rasse	Reprostatus	Substanz	Gewicht	Mit der Testsubstanz verabreichtes 1,25(OH) ₂ D ₃
4816	Braunvieh	trächtig	R1	531 kg	263,25 µg
99646	Kreuzung	leer	R1	504 kg	249,75 µg
4838	Holstein-Friesian	leer	R1	473 kg	236,25 µg
99644	Holstein-Friesian	leer	R1	495 kg	249,75 µg
4836	Kreuzung	leer	R1	460 kg	229,50 µg
69095	Kreuzung	trächtig	R3	556 kg	278,00 µg
4810	Kreuzung	leer	R3	500 kg	250,00 µg
69116	Holstein-Friesian	leer	R3	571 kg	285,50 µg
69087	Kreuzung	leer	R3	596 kg	298,00 µg
99653	Kreuzung	leer	R3	587 kg	294,50 µg

Ohrmarke	Rasse	Reprostatus	Substanz	Gewicht	Mit der Testsubstanz verabreichtes 1,25(OH) ₂ D ₃
4830	Kreuzung	leer	R4	528 kg	264,00 µg
69114	Holstein-Friesian	leer	R4	557 kg	278,50 µg
69110	Kreuzung	trächtig	R4	606 kg	303,00 µg
99652	Holstein-Friesian	leer	R4	461 kg	230,50 µg
99654	Kreuzung	leer	R4	594 kg	297,00 µg
4823	Kreuzung	leer	R5	540 kg	270,00 µg
69104	Kreuzung	leer	R5	670 kg	335,00 µg
4826	Fleckvieh	leer	R5	583 kg	291,50 µg
4809	Fleckvieh	trächtig	R5	533 kg	266,50 µg
99648	Kreuzung	leer	R5	594 kg	297,00 µg

3.7 Probenentnahme

Für die Probenentnahme wurden die Tiere im Fressgitter fixiert. Die Gewinnung von Serum und Urin erfolgte bei allen Versuchen nach dem gleichen Zeitschema, wobei im Versuch 2, zusätzlich an zwei weiteren Tagen Urin von den Tieren gewonnen wurde. Die Intervalle wurden wie folgt festgelegt:

- Tag 0 (vor Bolusapplikation)
- Tag 1
- Tag 2
- Tag 3
- Tag 4
- Tag 5
- Tag 7
- Tag 9
- Tag 11
- Tag 13 (nur Uringewinnung im Versuch 2)
- Tag 15 (nur Uringewinnung im Versuch 2)

Die **Futterproben** wurden jeweils zu Beginn des Versuches, direkt nachdem der Futtermischwagen den Tieren das frische Futter vorgelegt hatte, vom Futtertisch entnommen, in geeignete Plastikbeutel verpackt und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C eingefroren.

3.7.1 Blutprobenentnahme

Die Entnahme von 10 ml Blut erfolgte an der V. coccygea. Für die Blutentnahme aus der V. coccygea wurden die Tiere von einer Hilfsperson fixiert, der Schwanz senkrecht gestellt und die Vene mittels einer auf ein Serumröhrchen aufgesteckten Kanüle punktiert. (18 G Kanüle, B. Braun). Bei 3 Tieren war es aus Sicherheitsgründen erforderlich zur Blutentnahme die V. jugularis zu punktieren. Hierbei wurde abwechselnd die V. jugularis sinistra und die V. jugularis dextra punktiert. Für die Blutentnahme an der V. jugularis wurde das Tier mit einem Kopfstrickhalter fixiert, damit die Vene punktiert werden konnte.

3.7.2 Gewinnung von Spontanurin

Der Harnabsatz der Rinder gelang durch sanftes bis kräftiges Streichen in dorsoventraler Richtung ventral der Vulva. Hierzu wurde ein Stroh Bündel verwendet. Der Mittelstrahlurin wurde in Urinbechern mit einem Volumen von 60 ml aufgefangen. Jedoch war es trotz geduldiger Vorgehensweise nicht immer möglich von jedem Tier Urin zu gewinnen. (siehe Ergebnisse aus Versuch 1 und 2).

3.8 Untersuchte Parameter

Im Serum wurden die Parameter $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, Calcium, Phosphor, Magnesium, Kalium und Natrium bestimmt. Im Urin wurden die Parameter Calcium, Phosphor, Kalium, Natrium und Kreatinin bestimmt.

Nach der Gerinnung des Blutes bei Raumtemperatur wurden die Proben 10 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Überstehendes, klares Serum wurde in Eppendorfcups abpipettiert. Die Bestimmung der Parameter Calcium, Kalium und Natrium erfolgte an frisch gewonnenem Serum, für die weiteren Analysen wurde das Serum in 1,5 ml- Serum Cups bei -20 °C eingefroren.

Im Urin wurden die Parameter Calcium, Kalium und Natrium an frisch gewonnenem Urin bestimmt. Bis zur weiteren Analyse wurde der Urin bei -20 °C eingefroren.

3.8.1 Serum

Calcium, Kalium und Natrium

Die Bestimmung des Serumcalciumspiegels erfolgte an einem Flammenphotometer (Efox 5053, EPPENDORF, Hamburg). Die einzelnen Serumproben wurden mit der gleichen Menge bidestilliertem Reinstwasser verdünnt und dann mit dem Vortexer homogenisiert. Anschließend wurde die Probe mit einer 1% igen Lithiumchloridlösung mit Hilfe eines Dual Diluters 1:20 verdünnt und mit Acetylen verbrannt. Die Intensität der entsprechenden Flamme war direkt proportional zum Calciumgehalt der Probe. Bei der gleichen Messung wurde auch der Natrium- und Kaliumgehalt der Probe bestimmt.

Phosphor

Der Phosphorgehalt im Serum wurde mittels Spektralphotometer (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic; USA) bestimmt. Um die Proben für die Messung vorzubereiten, wurden 100 µl der Serumprobe mit 2 ml Trichloressigsäure (TCA) zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Anschließend wurde in die PP-Rundbodenröhrchen 2 ml von einer Mischung aus Ammoniummolybdat und AmmoniumvanadatLösung (Mischungsverhältnis 1:1) vorgelegt. Danach wurde 1 ml der zentrifugierten Probenaufbereitung zugegeben und mit dem Vortexer homogenisiert. Anschließend wurden die Proben 10 min inkubiert. Nach der Blindwerteinstellung wurden die Proben bei 336 nm in Messküvetten gemessen. Der Phosphatgehalt in mmol/l ergab sich aus folgender Formel, wobei der Wert 10,5 einen empirischen Faktor und der Wert 0,34 g/mmol die Standardkonzentration darstellen.

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

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 aliquotiert. In das Programm wurden die Einwaagen der einzelnen Proben und die Verdünnung eingegeben und anschließend der Magnesiumgehalt im Serum errechnet.

1,25(OH)₂D₃-Gehalt

Die Bestimmung des 1,25(OH)₂D₃ im Serum wurde von der Firma HERBONIS AG, Augst, Schweiz durchgeführt. Da die Analyse des 1,25(OH)₂D₃ sehr teuer ist, wurden die Serumproben aller Tiere einer Versuchsgruppe pro Tag aus Kostengründen gepoolt. Die Ermittlung der 1,25(OH)₂D₃ Konzentration basiert auf einer kompetitiven Enzyme-Immuno-Assay-Technik. Ein monoklonaler Detektionsantikörper bindet nach Vorinkubation das 1,25(OH)₂D₃ im Serum. Durch Bindung eines weiteren Peroxidase-markierten Antikörpers, entsteht eine chromogene Verbindung die photometrisch gemessen wurde.

3.8.2 Urin

Calcium, Kalium und Natrium

Die Bestimmung des Calciumgehalts im Urin erfolgte ebenfalls am Flammenphotometer (Efox 5053, EPPENDORF, Hamburg), wobei der Urin unverdünnt verwendet werden konnte. Die Parameter Kalium und Natrium konnten auch am Flammenphotometer während derselben Messung bestimmt werden. Das Prinzip ist analog zur Bestimmung der Werte im Serum.

Phosphor

Der Phosphorgehalt im Urin wurde analog zur Bestimmung des Phosphorgehalts im Serum durchgeführt. Zunächst wurden auch hier wiederum 0,1 ml Urin mit 2 ml TCA versetzt, um eventuell vorhandenes Protein auszufällen.

Kreatinin

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

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

Nachdem auf die erste Mikrotiterplatte 190 µl Reinstwasser und 10 µl Urin aufgetragen wurden, wurde mit Hilfe zweier weiterer Mikrotiterplatten eine Verdünnungsreihe erstellt, so dass in der dritten Platte der Urin in einer Verdünnung von 1:40 vorlag. Nach Zugabe der 0,14%igen Pikrinsäure und einer

30 minütigen Inkubationszeit im Thermomixer erfolgte die photometrische Messung bei 490 nm mit einem ELISA-Plattenleser.

3.8.3 Futteranalyse

3.8.3.1 Trockensubstanz

Um die Trockensubstanz zu ermitteln, wurden etwa 100 bis 150 g der ursprünglichen Substanz auf tarierten Aluschalen eingewogen und bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank (Heraeus Funktion Kine KENDRO, Langenselbold) bei 103°C getrocknet. Danach wurden die Proben im Exsikkator (VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien) abgekühlt und zurückgewogen. Der nichtflüchtige Anteil des Futters ergibt die Trockensubstanz in Prozent der ursprünglichen Substanz.

3.8.3.2 Weender-Analyse des Futters

Die Analyse der Rohnährstoffe Rohprotein (RP), Rohfett (Rfe), Rohfaser (Rfa) und Rohasche (Ra) erfolgte anhand der Weender Analyse. Zuvor wurde das Futter, nachdem es aufgetaut war, fein gemahlen (Grindomix, GM 200, Firma RETSCH, Haan).

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 bezogen von VWR INTERNATIONAL GmbH, Wien, Österreich

Durchführung

Für die Rohfaser-Bestimmung wurden die getrockneten Futterproben aus der TS-Bestimmung verwendet. Nachdem die leeren Fritten gewogen wurden, erfolgte die Futtereinwaage von etwa 1 g (auf 0,1 mg genau) und ein Zusatz von etwa 0,2 g Celite als Filtrationshilfsmittel (auf 0,1 mg genau) zu jeder Probe. Nun wurden die Proben im Fibertec hot extractor mit Schwefelsäure (H_2SO_4 , 1,25 %ig) und Kalilauge (KOH, 1,25 %ig) gekocht. Fingen die Proben zu schäumen an, mussten 1 bis 2 Tropfen Octanol zugegeben werden. Nach jedem der beiden Säurekochvorgänge wurde dreimal mit Reinstwasser gespült. Anschließend wurden die Glasfiltertiegel etwa 1 Stunde im Trockenschrank bei 103 °C getrocknet, im Exsikkator etwa 30 Minuten abgekühlt, um die Gewichtskonstanz beizubehalten, und anschließend mit der Analysenwaage gewogen. Danach wurden sie 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.

Rohasche- Bestimmung

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

Rohprotein- Bestimmung

Prinzip

Die Bestimmung des Rohprotein-Gehalts erfolgte nach dem Kjeldahl-Verfahren, bei dem der gesamte im Futter enthaltene Stickstoff ermittelt wird. Anschließend wurde der Proteingehalt in Prozent mit Hilfe des Umrechnungsfaktors ($\text{N} \times 6,25$) berechnet.

Gerät

- FOSS Kjelttec 2400, Dispenser 0 -25 ml, FOSS, Hamburg

Durchführung

In eine 250 ml Tube wurden 0,5 g bis 1 g Futter in seiner ursprünglichen Substanz eingewogen, ein bis zwei Kjeltabs und 10 ml konzentrierte H_2SO_4 mit dem Dispenser zugegeben. Anschließend wurde die Probe bei 380°C im Aufschlussblock gekocht, wobei der Stickstoff in Ammoniumsulfat übergeht. In einem sich anschließenden Destillierprozess wurde der Stickstoff unter Zugabe der Natronlauge als NH_3 in eine Vorlage aus Borsäure überführt. Schließlich konnte mit Salzsäure der NH_4OH -Gehalt der Vorlage durch Titration ermittelt und so die Stickstoffmenge erfasst werden. Die Umrechnung von Stickstoff auf % Rohprotein erfolgte automatisch.

Rohfett-Bestimmung**Geräte**

- Soxtec Avanti 2050, FOSS, Hamburg
- Trockenschrank Heraeus Funktion Kine, KENDRO, Langenselbold

Durchführung

Für die Fettextraktion wurden die Futterproben in einem Mörser zerkleinert und anschließend per Analysenwaage 1 bis 2 g mittels eines Hülsenträgers direkt in die Filterhülsen eingewogen. Das Gewicht des unteren Topfes mit drei Siedesteinchen wurde notiert. Anschließend wurde der Fettextractor mit den Probegefäßen bestückt, die Extraktionshülsen mit 80 ml Petroläther gefüllt und mit Programm 1 bei 135°C extrahiert. Nach der Trocknung der Töpfe mit den Glasperlen und dem Fett während 60 Minuten bei 103°C im Trockenschrank und anschließender Abkühlung im Exsikkator konnte durch die Gewichts Differenz das Rohfett in Prozent bestimmt werden.

3.8.3.3 Mengenelemente**Calcium-, Phosphor-, Magnesium-, Kalium- und Natriumgehalt**

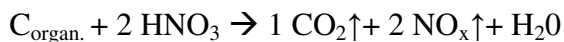
Die Messung dieser Mineralstoffe im Futter erfolgte mit denselben Geräten wie bei der Mineralstoffmessung aus dem Serum. Jedoch wurden die getrockneten

und gemahlenen Futterproben zuvor mittels Mikrowellenaufschluss homogenisiert. Der Phosphatgehalt wurde in diesem Fall nach folgender Formel ermittelt:

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

Prinzip des Mikrowellenaufschlusses

Durch Kochen in konzentrierter Salpetersäure (HNO_3) bei erhöhten Temperaturen wird die Probe unter Druck aufgeschlossen und zur weiteren Analyse in Lösung gebracht. Bei dem Aufschluss läuft folgende Reaktion ab:



Gerät:

- Mikrowelle mls 1200 mega mit dazugehörigem Steuergerät TERMINAL 320
- und 50 ml Quarzglaseinsatz (EMLS © , PFA-C-35/QS-50 Einsatz), MLS GmbH, Leutkirch im Allgäu

Durchführung

Für den Mikrowellenaufschluss wurden die für die TS – Bestimmung vorbereiteten Proben verwendet. Mit der Analysenwaage wurden diese in die Quarzglaseinsätze eingewogen und in die Druckkammern aus Teflon eingesetzt. In die Quarzgläser wurden je 5 ml HNO_3 aliquotiert, und in die sie umgebenden Teflontiegel wurden je 5 ml Reinstwasser und je 1 ml H_2O_2 aliquotiert. Anschließend wurden die Druckkammern verschraubt und in das Mikrowellenrondell eingesetzt, wobei in eine der Kammern in einen dafür vorgesehenen Mechanismus ein Temperatursensor eingesetzt wurde. Nach einer Kochphase von etwa 60 min und einer 20 minütigen Abkühlungsphase wurden die Druckkammern aus den Tiegeln entnommen. Die nun in Lösung gebrachten Proben wurden in 12 ml- Röhrchen überführt und mit Reinstwasser bis zur 10 ml- Skalierung aufgefüllt.

3.9 Statistische Auswertung

Die Blut- und Urinproben wurden in drei Versuchen erhoben. Aus diesen Proben wurden im Labor die entsprechenden Daten für die statistische Analyse gewonnen. Die Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms® (SPSS Incorporation, Version 16.0) ausgewertet.

Die Ergebnisse der Analysen werden in dieser Arbeit als arithmetischer Gruppenmittelwert und der dazugehörigen Standardabweichung ($MW \pm SA$) angegeben.

Zunächst wurde untersucht, ob Alter, Gewicht und Reproduktionsstatus der Tiere einen Einfluss auf die Parameter Calcium im Serum und Calcium im Urin haben. Die Untersuchung, ob sich die Gruppen hinsichtlich dieser Parameter voneinander unterscheiden, erfolgte mit der Varianzanalyse (ANOVA). Besonders relevant ist, ob Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen vorliegen. Auf Grund der geringen Anzahl an Versuchstieren pro Gruppe konnte nicht für alle Testreihen die Varianzanalyse eingesetzt werden. Aus diesem Grund wurde der alternative Kruskal- Wallis- Test angewandt. Um die Ergebnisse der statistischen Analysen bewerten zu können, ist der p-Wert bedeutsam. Der p-Wert steht für die Signifikanz statistischer Resultate. p-Werte von $p < 0,05$ werden dabei als statistisch signifikant bewertet. Dabei steht p für die Irrtumswahrscheinlichkeit, d.h. wenn $p < 0,05$ ist, liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % und zwischen den beiden verglichenen Gruppen besteht ein signifikanter Unterschied. P-Werte $< 0,01$ werden als hoch signifikant bezeichnet.

Im Versuch 1 wurde die Retardform 1 an 3 Tieren untersucht. Deshalb konnte keine aussagekräftige Statistik erstellt werden.

4 Ergebnisse

4.1 Laborchemische Parameter und klinische Erscheinungen

4.1.1 Versuch 1

4.1.1.1 Parameter im Serum

Calciumgehalt im Serum

Im Versuch 1 wurde die Retardform 1 an 3 Tieren getestet. Der Referenzbereich für den Calciumgehalt liegt zwischen 2,3 und 2,8 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Tabelle 4.1 zeigt den Verlauf des Serumcalciumgehalts in mmol/l innerhalb eines Zeitraums von 11 Tagen nach Applikation der Testsubstanz. Ebenfalls aufgeführt sind der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (SA). Deutlich zu sehen ist der Anstieg des Calciumwertes, der im Zeitraum um den Tag 2 bis Tag 3 seinen Höhepunkt ($2,74 \pm 0,05$ mmol/l) hat. Der Calciumgehalt im Serum steigt in den ersten zwei Tagen nach Applikation der Retardform 1 um 11 %. Erst am Tag 11 nach Wirkstoffapplikation erreicht der Serumcalciumwert wieder den Ausgangswert von Tag 0.

Phosphorgehalt im Serum

Tabelle 4.1 zeigt die Serumphosphorwerte in mmol/l (MW \pm SA) nach Verabreichung der Retardform 1 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Der Referenzbereich für den Phosphorgehalt liegt zwischen 1,6- 2,3 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Vor der Applikation liegt der Phosphorgehalt bei einem Wert von $2,23 \pm 0,19$ mmol/l. Am Tag 1 ist bereits ein Anstieg um 44 % des Serumphosphorgehalts zu sehen. Der Höhepunkt des Kurvenverlaufes wird am Tag 3 erreicht ($3,22 \pm 0,12$ mmol/l), danach fällt der Serumphosphorspiegel bis zum Tag 11 ($2,12 \pm 0,17$ mmol/l) kontinuierlich wieder ab.

1,25(OH)₂D₃-Gehalt im Serum

In Tabelle 4.1 sind die Werte des 1,25(OH)₂D₃ im Serum nach Verabreichung der Retardform 1 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen dargestellt. Aus Kostengründen wurden die Proben aller 3 Tiere täglich gepoolt, weshalb keine Standardabweichung angegeben werden kann. Der Wert des 1,25(OH)₂D₃ steigt

schon innerhalb eines Tages nach Applikation der Boli von 23,6 pg/ml auf 733,8 pg/ml an. Ein enormer Anstieg ist hierbei zu sehen. Die Konzentration des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum liegt beim Rind normalerweise bei $38 \pm 10,4$ pg/ml (Tiere im Alter von 48-72 Monaten) und $48 \pm 18,4$ (Tiere im Alter von 4-6 Monaten) (HORST & LITTELDIKE, 1982).

Tabelle 4.1: *Versuch 1*- Calcium-, Phosphorwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - Werte im Serum in pg/ml an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1 (n=3)

Versuch 1			
Retard 1			
	Calcium_{Serum} (mmol/l)	Phosphor_{Serum} (mmol/l)	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$_{Serum} (pg/ml)
Tag	MW \pm SA	MW \pm SA	MW
0	2,46 \pm 0,03	2,23 \pm 0,19	23,6
1	2,59 \pm 0,05	3,22 \pm 0,39	733,8
2	2,74 \pm 0,06	3,22 \pm 0,12	429,9
3	2,74 \pm 0,05	3,22 \pm 0,16	210,6
4	2,64 \pm 0,06	3,18 \pm 0,12	147,3
5	2,63 \pm 0,08	3,01 \pm 0,06	79,5
7	2,63 \pm 0,08	2,76 \pm 0,29	22,5
9	2,52 \pm 0,03	2,33 \pm 0,07	27
11	2,47 \pm 0,03	2,12 \pm 0,17	25,5

Magnesiumgehalt im Serum

Der Referenzbereich des Serummagnesiumgehalts liegt nach KRAFT und DÜRR (2005) zwischen 0,8 bis 1,3 mmol/l. In Tabelle 4.2 sind die Serummagnesiumwerte (MW \pm SA) während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen dargestellt. Die mittleren Serummagnesiumgehalte liegen zwischen 0,70 mmol/l und 0,98 mmol/l. Am Tag 11 ist ein sehr geringer Anstieg von 16 % gegenüber dem Wert vom Tag 0 zu sehen. Von Tag 1 bis 5 ist eine geringgradige Hypomagnesiämie zu sehen. Zu jedem Zeitpunkt weisen die Werte eine nur sehr geringe Standardabweichung auf.

Kaliumgehalt im Serum

Tabelle 4.2 zeigt die mittleren Serumkaliumwerte während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen nach Applikation des Bolus. Der Referenzbereich für das Kalium im Serum liegt beim Rind zwischen 3,5- 4,5 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Damit liegen alle gemessenen Werte des Versuch 1 zu jedem Zeitpunkt im Referenzbereich. Geringe tägliche Schwankungen von $\pm 0,30$ mmol/l sind jedoch zu sehen. Allerdings ist kein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte zu sehen.

Natriumgehalt im Serum

Tabelle 4.2 zeigt die mittleren Serumnatriumgehalte (MW \pm SA) während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Der Referenzbereich für den Natriumgehalt im Serum liegt beim Rind zwischen 135- 157 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Alle gemessenen Werte liegen annähernd innerhalb des Referenzbereiches. Nur am Tag 11 liegt eine geringgradige Hybernatriämie vor. Ein stetiger Anstieg oder Abfall der Werte kann hier nicht gezeigt werden, es liegen nur geringe tägliche Schwankungen vor.

Tabelle 4.2: *Versuch 1*- Magnesium-, Kalium- und Natriumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1 (n=3)

Versuch 1			
Retard 1			
	Magnesium _{Serum} (mmol/l)	Kalium _{Serum} (mmol/l)	Natrium _{Serum} (mmol/l)
Tag	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,84 \pm 0,14	4,10 \pm 0,17	156 \pm 1,0
1	0,74 \pm 0,05	4,05 \pm 0,14	153 \pm 0,9
2	0,70 \pm 0,01	4,19 \pm 0,14	154 \pm 1,0
3	0,74 \pm 0,03	4,51 \pm 0,38	157 \pm 3,2
4	0,71 \pm 0,04	4,15 \pm 0,03	154 \pm 0,6
5	0,73 \pm 0,02	4,23 \pm 0,19	155 \pm 0,3
7	0,81 \pm 0,04	4,15 \pm 0,20	153 \pm 0,6
9	0,89 \pm 0,09	4,17 \pm 0,34	154 \pm 2,5
11	0,98 \pm 0,02	4,49 \pm 0,27	157 \pm 3,8

4.1.1.2 Parameter im Urin

Calcium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.3 zeigt die Calcium-Kreatinin Quotienten ($MW \pm SA$) über den Versuchszeitraum von 11 Tagen. Am Tag 1 liegen keine Werte vor, da an diesem Tag kein Urin gewonnen werden konnte. Während des Versuchsverlaufs ist eine deutliche Steigerung der Werte zu sehen. Am Tag 4 liegt der höchste Wert (0,402) vor, gegenüber dem Wert vom Tag 0 ist hier eine Steigerung um ca. 300 % messbar. Jedoch sieht man große Schwankungen von Tag zu Tag und auch die Standardabweichungen sind an den Tagen 0, 2, 4 und 5 sehr groß. Am Tag 9 und 11 ist gegenüber dem Tag 0 immer noch eine deutliche Erhöhung der Werte zu sehen. Ein Abfall gegen Ende des Versuches ist hier nicht zu sehen.

Phosphor-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.3 zeigt die Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin ($MW \pm SA$) während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Auch hier gibt es für den Tag 1 keine Werte, da zu diesem Zeitpunkt keine Uringewinnung möglich war. Auch hier ist eine deutliche Erhöhung der Werte zu sehen. Am Tag 3 erreichen die Werte ihren Höhepunkt mit 0,304, was einer Steigerung von ca. 120 % gegenüber den Werten von Tag 0 entspricht. Gegen Ende des Versuches (Tag 9 und 11) befinden sich die Werte sogar unterhalb des Ausgangswertes. Am Tag 2, 3, 4 und 5 werden hohe Standardabweichungen deutlich. Dennoch ist ein Anstieg bis Tag 3 mit anschließendem Abfall zu sehen.

Tabelle 4.3: *Versuch 1* – Calcium-Kreatinin- und Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin ($MW \pm SA$) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1

Versuch 1			
Retardform 1			
		Calcium/Kreatinin_{Urin}	Phosphor/Kreatinin_{Urin}
Tag	n	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2	0,101 \pm 0,115	0,138 \pm 0,077
1	0		
2	2	0,198 \pm 0,153	0,290 \pm 0,291
3	2	0,148 \pm 0,083	0,304 \pm 0,316
4	3	0,337 \pm 0,276	0,298 \pm 0,361
5	3	0,281 \pm 0,180	0,227 \pm 0,228
7	3	0,288 \pm 0,079	0,135 \pm 0,038
9	2	0,402 \pm 0,078	0,100 \pm 0,022
11	3	0,385 \pm 0,066	0,103 \pm 0,008

Kalium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.4 zeigt die Kalium-Kreatinin Quotienten im Urin ($MW \pm SA$) über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Die Werte zeigen nur geringe Schwankungen. Es wird kein deutlicher Anstieg oder Abfall der Werte über den Versuchszeitraum sichtbar. Vielmehr sind Schwankungen von Tag zu Tag zu sehen. Auch hier sind am Tag 1 keine Werte vorhanden, da an diesem Tag kein Urin gewonnen werden konnte. Die gemessenen Werte entsprechen den von SPIEKER (1989) ermittelten Werten beim Rind.

Natrium-Kreatinin-Quotient im Urin

Tabelle 4.4 zeigt die Natrium - Kreatinin Quotienten im Urin ($MW \pm SA$) während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Es ist kein deutlicher Anstieg oder Abfall der Werte über den Versuchszeitraum zu sehen. Vielmehr sind Schwankungen von Tag zu Tag zu sehen. Die Werte liegen innerhalb des von SPIEKER (1989) bestimmten Bereiches. Am Tag 1 sind keine Werte vorhanden, da hier keine Urinproben gewonnen werden konnten.

Tabelle 4.4: *Versuch 1* – Kalium-Kreatinin- und Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1

Versuch 1			
Retardform 1			
		Kalium/Kreatinin_{Urin}	Natrium/Kreatinin_{Urin}
Tag	n	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2	13,867 \pm 5,429	1,165 \pm 0,483
1	0		
2	2	20,363 \pm 0,516	5,048 \pm 2,465
3	2	23,733 \pm 0,756	7,220 \pm 1,478
4	3	19,959 \pm 5,009	2,189 \pm 0,695
5	3	25,945 \pm 7,601	2,040 \pm 0,772
7	3	16,157 \pm 1,061	0,695 \pm 0,384
9	2	26,615 \pm 2,914	0,418 \pm 0,212
11	3	22,380 \pm 4,000	0,336 \pm 0,066

4.1.2 Versuch2

4.1.2.1 Parameter im Serum

Calciumgehalt im Serum

Tabelle 4.5 zeigt den Calciumgehalt im Serum (MW \pm SA), dabei wurde die Retardform 2, die unretardierte Form (Solbone), synthetisches 1,25(OH)₂D₃ und eine Kombination aus der Retardform 2 und Solbone eingesetzt. Zusätzlich dienten 5 Tiere als Kontrollgruppe. Am Tag 0 befinden sich die Werte aller Tiere auf etwa dem gleichen Serumcalciumwert (2,40-2,50 mmol/l). Bereits am Tag 1 sieht man bei der Retardform 2 den deutlichsten Anstieg um etwa 11 %. Somit ergibt sich schon am Tag 1 ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) der Retardform 2 gegenüber der 1,25(OH)₂D₃-Gruppe und ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe. Der weitere Anstieg des Calciumwertes hat am Tag 2 hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) sowohl gegenüber der 1,25(OH)₂D₃-Gruppe als auch zur Kontrollgruppe zur Folge. Ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) ist dabei auch gegenüber der nicht retardierten Form Solbone festzustellen. Im weiteren Verlauf ergeben sich bis einschließlich Tag 9 hoch signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede der Retardform 2 gegenüber der

Kontrollgruppe. Ab dem Tag 2 sind ebenfalls hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) im Verlauf der Kurve der Retardform 2 gegenüber der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe zu sehen, allerdings sind diese Unterschiede nur bis einschließlich Tag 7 des Versuches signifikant. Am Tag 4 und Tag 7 sind hier auch noch hoch signifikante ($p < 0,01$) bzw. signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen der Retardform 2 und der Solbone Gruppe festzustellen. Die Gruppe Solbone unterscheidet sich nahezu zu allen Zeitpunkten ab Tag 1 bis Tag 9 hoch signifikant ($p < 0,01$) von der Kontrollgruppe. Auch die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe zeigt hinsichtlich ihres Verlaufes an Tag 1 bis einschließlich Tag 7 einen hoch signifikanten ($p < 0,01$) bzw. signifikanten ($p < 0,05$, Tag 7) Unterschied gegenüber der Kontrolle. Die Kombination zeigt hinsichtlich ihres Verlaufes nur gegenüber der Kontrollgruppe von Tag 1 bis einschließlich Tag 7 einen zumeist hoch signifikanten ($p < 0,01$) Unterschied. Am Tag 2 besteht auch gegenüber der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Am Tag 11 sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mehr zu messen, da alle Calciumwerte wieder auf ihren Ausgangswert zurückgefallen sind. Der Calciumverlauf im Serum wurde weder durch Alter, Gewicht oder Reproduktionsstatus signifikant beeinflusst.

Tabelle 4.5: Versuch 2 – Calciumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination (jeweils n=5)

Versuch 2					
Calcium Serum (mmol/l)					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)₂D₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2,47 \pm 0,06	2,50 \pm 0,06	2,40 \pm 0,02	2,46 \pm 0,11	2,40 \pm 0,06
1	2,75 \pm 0,06 cE	2,67 \pm 0,03 E	2,64 \pm 0,05 E	2,68 \pm 0,12 e	2,44 \pm 0,09
2	2,89 \pm 0,07 bCE	2,74 \pm 0,07 E	2,67 \pm 0,09 Ed	2,81 \pm 0,12 E	2,39 \pm 0,02
3	2,82 \pm 0,06 cE	2,75 \pm 0,11 E	2,72 \pm 0,09 E	2,81 \pm 0,08 E	2,42 \pm 0,03
4	2,86 \pm 0,03 BCE	2,72 \pm 0,06 E	2,72 \pm 0,06 E	2,78 \pm 0,10 E	2,45 \pm 0,05
5	2,81 \pm 0,06 CE	2,64 \pm 0,16 e	2,61 \pm 0,02 E	2,76 \pm 0,11 E	2,46 \pm 0,03
7	2,77 \pm 0,09 bCE	2,60 \pm 0,11	2,57 \pm 0,06 e	2,71 \pm 0,16 e	2,44 \pm 0,06
9	2,64 \pm 0,12 E	2,59 \pm 0,07 E	2,56 \pm 0,09	2,57 \pm 0,11	2,46 \pm 0,02
11	2,48 \pm 0,12	2,44 \pm 0,06	2,45 \pm 0,02	2,45 \pm 0,05	2,40 \pm 0,05

a (p < 0,05)	A (p < 0,01)	vs. Retardform 2
b (p < 0,05)	B (p < 0,01)	vs. Solbone
c (p < 0,05)	C (p < 0,01)	vs. 1,25(OH) ₂ D ₃
d (p < 0,05)	D (p < 0,01)	vs. Kombination
e (p < 0,05)	E (p < 0,01)	vs. Kontrolle

Phosphorgehalt im Serum

In Tabelle 4.6 sind die Phosphorwerte im Serum (MW \pm SA) aus Versuch 2 aufgeführt. Am Tag 0, vor Applikation des Wirkstoffes, liegen die Ausgangswerte zwischen 2,24 -2,44 mmol/l. Am Tag 1 steigt der Wert bei der Retardform 2 bereits so stark an, dass sowohl gegenüber der 1,25(OH)₂D₃ Gruppe, als auch gegenüber der Kontrollgruppe hoch signifikante (p<0,01) Werte zu sehen sind. Gegenüber der Kontrollgruppe zeigt die Retardform 2 bis einschließlich Tag 11 einen hoch signifikanten (p<0,01) Unterschied. Auch gegenüber der 1,25(OH)₂D₃-Gruppe sind signifikante (p<0,05) (Tag 2, 3 und 9), aber auch hoch signifikante (p<0,01) (Tag 1 und 7) Unterschiede erkennbar. Die Solbone Gruppe weist vom Tag 1 bis einschließlich Tag 7 teils hoch signifikante (p<0,01) (Tag 1, 2, 3, 4 und 7), aber auch signifikante (p<0,05) (Tag 0 und 5) Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe auf. Von Tag 0 bis Tag 3 sind signifikante (p<0,05), am Tag 1 sogar hoch signifikante (p<0,01) Unterschiede zwischen der Solbone Gruppe verglichen mit der 1,25(OH)₂D₃-Gruppe zu sehen. Einzig der

Tag 5 zeigt einen signifikanten Unterschied gegenüber der Kombination. Die 1,25(OH)₂D₃-Gruppe weist von Tag 1 bis Tag 9 meist hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) gegenüber der Kontrolle auf. Von Tag 1 bis 3 sind auch signifikante ($p < 0,05$) (Tag 1 und 3), bzw. hoch signifikante ($p < 0,01$) (Tag 2) Unterschiede gegenüber den Werten der Kombination zu sehen. Die Gruppe, an die die Kombination verabreicht wurde, zeigt ab Tag 1 bis 7 hoch signifikante ($p < 0,01$), und auch signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.6: Versuch 2 – Phosphorwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination (jeweils $n=5$)

Versuch 2					
Phosphor _{Serum} (mmol/l)					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH) ₂ D ₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2,33 \pm 0,11	2,44 \pm 0,06 ce	2,30 \pm 0,07	2,35 \pm 0,38	2,24 \pm 0,17
1	2,98 \pm 0,18 CE	2,84 \pm 0,18 CE	2,50 \pm 0,12 ed	2,85 \pm 0,24 E	2,07 \pm 0,30
2	3,30 \pm 0,10 CE	3,25 \pm 0,21 E	2,81 \pm 0,25 ED	3,41 \pm 0,15 E	2,12 \pm 0,21
3	3,51 \pm 0,17 CE	3,41 \pm 0,23 CE	3,05 \pm 0,19 Ed	3,38 \pm 0,21 E	2,22 \pm 0,18
4	3,47 \pm 0,29 E	3,45 \pm 0,53 E	3,24 \pm 0,34 E	3,43 \pm 0,12 E	2,38 \pm 0,22
5	2,94 \pm 0,10 Ed	2,71 \pm 0,41 ed	2,60 \pm 0,32 E	3,17 \pm 0,12 E	2,05 \pm 0,15
7	2,98 \pm 0,17 CE	2,66 \pm 0,35 E	2,43 \pm 0,23 e	2,89 \pm 0,19 E	2,06 \pm 0,10
9	2,63 \pm 0,25 bcE	2,10 \pm 0,16 d	2,05 \pm 0,44	2,43 \pm 0,24 e	1,97 \pm 0,08
11	2,47 \pm 0,23 E	2,26 \pm 0,34	2,10 \pm 0,16	2,43 \pm 0,27	2,10 \pm 0,06

a ($p < 0,05$)	A ($p < 0,01$)	vs. Retardform 2
b ($p < 0,05$)	B ($p < 0,01$)	vs. Solbone
c ($p < 0,05$)	C ($p < 0,01$)	vs. 1,25(OH) ₂ D ₃
d ($p < 0,05$)	D ($p < 0,01$)	vs. Kombination
e ($p < 0,05$)	E ($p < 0,01$)	vs. Kontrolle

1,25(OH)₂D₃-Gehalt im Serum

Tabelle 4.7 zeigt die mittleren 1,25(OH)₂D₃- Werte im Versuch 2 im Serum im Versuchszeitraum von 11 Tagen. Bereits am Tag 1 ist bei allen Testgruppen der Höhepunkt der 1,25(OH)₂D₃- Menge im Serum feststellbar. Dabei fällt auf, dass die Retardform 2 den höchsten Wert mit 363,81 pg/ml Serum aufweist. Danach sieht man einen kontinuierlichen Abfall der Werte, bis am Tag 4 schon annähernd wieder die Ausgangswerte vor Applikation des Bolus erreicht sind. Gewisse

tägliche Schwankungen sind auffällig, da auch die Kontrollgruppe eine gewisse Variation der Werte zeigt. Die Standardabweichung konnte hier nicht bestimmt werden, da das Serum aller Tiere einer Gruppe aus Kostengründen täglich gepoolt wurde. Auch statistisch signifikante Unterschiede konnten aus diesem Grund nicht berechnet werden. Der Referenzbereich für den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gehalt im Serum von Rindern wurde von HORST (1982) bestimmt. Danach liegt der Referenzbereich für junge Tiere (4-6 Monate alt) bei $48,0 \pm 18,4$ pg/ml und für ältere Tiere (48-72 Monate alt) bei $38 \pm 10,4$ pg/ml.

Tabelle 4.7: Versuch 2 – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte im Serum in pg/ml (MW, gepoolt) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und der Kombination (jeweils n=5)

Versuch 2					
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Serum (pg/ml)					
Tag	Retard 2	Solbone	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	Kombi	Kontrolle
	MW	MW	MW	MW	MW
0	57,6	29,6	20,5	47,0	30,0
1	363,8	291,5	243,1	242,6	10,3
2	216,1	155,7	149,6	148,3	30,4
3	95,7	57,5	56,1	110,4	36,1
4	66,7	27,9	40,3	36,6	8,0
5	35,4	52,6	45,8	16,3	28,3
7	35,9	34,2	29,6	19,6	19,0
9	40,6	22,1	22,9	3,8	20,3
11	40,0	15,8	25,3	1,2	20,7

Magnesiumgehalt im Serum

Tabelle 4.8 zeigt den mittleren Serummagnesiumgehalt (MW \pm SA) während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Der Referenzwert für das Magnesium im Serum liegt zwischen 0,8- 1,3 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Retardform 2 zeigt gegenüber der Kontrolle am Tag 2 einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$), ebenfalls ist am Tag 9 und Tag 11 ein signifikanter ($p < 0,05$) bzw. hoch signifikanter ($p < 0,01$) Unterschied im Serummagnesiumgehalt verglichen mit der Kontrollgruppe zu sehen. Am Tag 11 ist der Serummagnesiumspiegel bei der Retardform 2 so hoch, dass auch gegenüber der Kombination ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied deutlich wird. Die Gruppe Solbone zeigt am Tag 1 und am Tag 11 jeweils einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) der Werte gegenüber der

Kontrollgruppe. Die 1,25(OH)₂D₃-Gruppe zeigt an den Tagen 1, 7, 9 und am Tag 11 teils hoch signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede im Verlauf gegenüber der Kontrollgruppe. Ebenfalls zu sehen ist, dass die Kombination am Tag 1 und 2 gegenüber der Kontrollgruppe einen niedrigeren Verlauf zeigt und deshalb auch hier hoch signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede auftreten.

Tabelle 4.8: *Versuch 2* – Magnesiumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination (jeweils $n=5$)

Versuch 2					
Magnesium_{Serum} (mmol/l)					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)₂D₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,87 \pm 0,05	0,92 \pm 0,10	0,87 \pm 0,02	0,88 \pm 0,04	0,85 \pm 0,05
1	0,73 \pm 0,06 e	0,74 \pm 0,05 e	0,77 \pm 0,03 ed	0,71 \pm 0,03 E	0,83 \pm 0,04
2	0,80 \pm 0,07	0,85 \pm 0,09	0,82 \pm 0,07	0,76 \pm 0,03 E	0,87 \pm 0,04
3	0,75 \pm 0,06	0,74 \pm 0,07	0,77 \pm 0,07	0,78 \pm 0,05	0,75 \pm 0,05
4	0,75 \pm 0,09	0,67 \pm 0,09	0,71 \pm 0,20	0,72 \pm 0,06	0,76 \pm 0,08
5	0,80 \pm 0,07	0,84 \pm 0,14	0,81 \pm 0,03	0,82 \pm 0,06	0,81 \pm 0,04
7	0,86 \pm 0,08	0,81 \pm 0,07	0,88 \pm 0,04 e	0,87 \pm 0,05	0,80 \pm 0,04
9	0,96 \pm 0,09 e	0,91 \pm 0,10	0,99 \pm 0,03 Ed	0,90 \pm 0,04	0,85 \pm 0,03
11	1,05 \pm 0,04 Ed	0,97 \pm 0,08 e	0,99 \pm 0,05 E	0,92 \pm 0,07	0,87 \pm 0,04

a ($p < 0,05$)	A ($p < 0,01$)	vs. Retardform 2
b ($p < 0,05$)	B ($p < 0,01$)	vs. Solbone
c ($p < 0,05$)	C ($p < 0,01$)	vs. 1,25(OH) ₂ D ₃
d ($p < 0,05$)	D ($p < 0,01$)	vs. Kombination
e ($p < 0,05$)	E ($p < 0,01$)	vs. Kontrolle

Kaliumgehalt im Serum

Tabelle 4.9 zeigt die Serumkaliumwerte der Gruppen über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Alle Werte befinden sich zu jedem Zeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches, der mit 3,5- 4,5 mmol/l für das Rind angegeben wird (KRAFT & DÜRR, 2005). Die Werte schwanken im Versuchszeitraum zwischen 3,75- 4,44 mmol/l. Die Retardform 2 zeigt lediglich am Tag 0 einen signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe. Auch Solbone zeigt am Tag 2 einen signifikanten Unterschied gegenüber der Kombination. Am Tag 11 sind die Werte von Solbone gegenüber der Kontrolle deutlich niedriger, somit ist hier ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zu sehen. Die Werte des 1,25(OH)₂D₃

sind am Tag 2 deutlich unter den Werten der Kombination zu finden, wodurch auch hier ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zu sehen ist.

Tabelle 4.9: Versuch 2 - Kaliumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ und der Kombination (jeweils $n=5$)

Versuch 2					
Kalium_{Serum} (mmol/l)					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)$_2$D$_3$	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	3,98 \pm 0,11 e	4,45 \pm 0,50	4,22 \pm 0,24	4,44 \pm 0,39	4,27 \pm 0,19
1	3,98 \pm 0,17	4,06 \pm 0,26	3,92 \pm 0,16	4,26 \pm 0,43	4,08 \pm 0,26
2	3,75 \pm 0,18	3,79 \pm 0,09 d	3,79 \pm 0,13 d	4,06 \pm 0,26	3,93 \pm 0,22
3	3,83 \pm 0,08	3,84 \pm 0,18	3,78 \pm 0,31	4,31 \pm 0,66	3,90 \pm 0,07
4	4,06 \pm 0,32	3,92 \pm 0,13	3,93 \pm 0,21	3,93 \pm 0,09	3,90 \pm 0,11
5	4,05 \pm 0,29	3,95 \pm 0,18	4,00 \pm 0,25	4,09 \pm 0,19	4,20 \pm 0,20
7	4,12 \pm 0,24	4,14 \pm 0,32	4,22 \pm 0,24	4,40 \pm 0,11	4,24 \pm 0,14
9	4,16 \pm 0,19	4,17 \pm 0,16	4,37 \pm 0,41	4,08 \pm 0,14	4,15 \pm 0,09
11	4,23 \pm 0,41	4,01 \pm 0,13 e	4,10 \pm 0,17	4,18 \pm 0,16	4,34 \pm 0,24

a ($p < 0,05$)	A ($p < 0,01$)	vs. Retardform 2
b ($p < 0,05$)	B ($p < 0,01$)	vs. Solbone
c ($p < 0,05$)	C ($p < 0,01$)	vs. 1,25(OH) $_2$ D $_3$
d ($p < 0,05$)	D ($p < 0,01$)	vs. Kombination
e ($p < 0,05$)	E ($p < 0,01$)	vs. Kontrolle

Natriumgehalt im Serum

Tabelle 4.10 zeigt den Serumnatriumgehalt während des Versuchszeitraumes von 11 Tagen. Die Werte befinden sich nahezu alle im Referenzbereich, der für das Rind zwischen 135- 157 mmol/l liegt (KRAFT & DÜRR, 2005). Lediglich am Tag 0 ist in der Gruppe Solbone eine leichte Hypernatriämie zu sehen. Der Verlauf des Natriumgehaltes im Serum zeigt in jeder Gruppe einige Schwankungen, die aber keinem Muster folgen. Am Tag 0 zeigt die Gruppe Retard 2 gegenüber der Kontrolle einen signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied. Am Tag 7 weist die Retardform 2 gegenüber der Kontrolle einen hoch signifikanten Unterschied ($p < 0,01$) auf. Am Tag 3 und Tag 7 werden signifikante Unterschiede gegenüber der Kombination deutlich. Die Gruppe Solbone zeigt an den Tagen 1, 4 und 7 Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe, die teils hoch signifikant ($p < 0,01$, Tag 7) sind. Gegenüber der Kombination sind am Tag 2 bis 4 und am Tag 7

signifikante Unterschiede sichtbar. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe zeigt nur am Tag 4 und Tag 7 gegenüber der Kontrollgruppe einen signifikanten Unterschied, gegenüber der Kombination wird nur am Tag 7 ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied sichtbar. Die Kombination unterscheidet sich zu keiner Zeit signifikant von der Kontrolle.

Tabelle 4.10: *Versuch 2* - Natriumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und der Kombination (jeweils $n=5$)

Versuch 2					
Natrium_{Serum} (mmol/l)					
Tag	Retard 2	Solbone	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	153 \pm 1,1 e	161 \pm 14,4	155 \pm 0,8	156 \pm 2,4	156 \pm 1,6
1	152 \pm 1,0	151 \pm 1,0 e	151 \pm 1,6	159 \pm 14,4	153 \pm 1,2
2	145 \pm 0,9	143 \pm 2,7 d	146 \pm 1,0	147 \pm 1,0	143 \pm 5,0
3	148 \pm 0,8 D	145 \pm 3,7 d	148 \pm 1,1	159 \pm 19,1	148 \pm 1,1
4	146 \pm 15,4	140 \pm 0,8 ed	139 \pm 5,1 e	143 \pm 1,9	142 \pm 1,3
5	150 \pm 5,6	150 \pm 1,8	150 \pm 1,7	148 \pm 1,5	149 \pm 2,2
7	147 \pm 0,9 Ed	146 \pm 1,1 ED	147 \pm 1,5 Ed	150 \pm 2,2	149 \pm 0,7
9	148 \pm 1,0	148 \pm 0,9	147 \pm 4,5	149 \pm 1,2	149 \pm 0,9
11	148 \pm 1,2	147 \pm 0,9	148 \pm 1,7	147 \pm 1,0	148 \pm 1,1

a ($p < 0,05$)

b ($p < 0,05$)

c ($p < 0,05$)

d ($p < 0,05$)

e ($p < 0,05$)

A ($p < 0,01$)

B ($p < 0,01$)

C ($p < 0,01$)

D ($p < 0,01$)

E ($p < 0,01$)

vs. Retardform 2

vs. Solbone

vs. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

vs. Kombination

vs. Kontrolle

4.1.2.2 Parameter im Urin

Calcium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.11 zeigt die Calcium-Kreatinin Quotienten im Urin während eines Versuchszeitraumes von 15 Tagen. Die Anzahl der gewonnenen Urinproben pro Gruppe und Tag ist mit n angegeben. Ein deutlicher Anstieg der Werte ist in allen Behandlungsgruppen zu sehen. Der höchste Wert wird am Tag 5 sichtbar. Während des Versuches ergeben sich signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen der Retardform 2 und der Kontrollgruppe an den Tagen 2, 3, 5 und 9. Am Tag 1 zeigt sich sogar ein hoch signifikanter ($p < 0,01$) Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen. Die Solbone Gruppe unterscheidet sich an den Tagen 1 und 2 jeweils hoch signifikant ($p < 0,01$) von der Kontrollgruppe, am Tag 1 ergibt sich ein signifikanter Unterschied gegenüber der Kombination. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe unterscheidet sich an den Tagen 1 bis 7 hoch signifikant ($p < 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe. An den Tagen 9 und 11 ergeben sich signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen diesen beiden Gruppen. Die Kombination unterscheidet sich am Tag 2 hoch signifikant ($p < 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe. Am Tag 3 bis 9 werden signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe sichtbar. Der Calciumgehalt im Urin konnte weder durch Alter, Gewicht oder Reproduktionsstatus signifikant beeinflusst werden.

Tabelle 4.11: Versuch 2 – Calcium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination

Versuch 2					
Calcium / Kreatinin_{Urin}					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)₂D₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,135 \pm 0,094 n=5	0,077 \pm 0,027 n=5	0,116 \pm 0,076 n=5	0,052 \pm 0,029 n=5	0,068 \pm 0,069 n=5
1	0,299 \pm 0,245 E n=5	0,326 \pm 0,095 Ed n=5	0,271 \pm 0,260 E n=5	0,127 \pm 0,109 n=4	0,022 \pm 0,006 n=4
2	0,273 \pm 0,244 e n=5	0,394 \pm 0,122 E n=5	0,565 \pm 0,526 E n=5	0,371 \pm 0,245 n=5	0,033 \pm 0,021 D n=5
3	0,305 \pm 0,247 e n=5	0,394 \pm 0,298 n=5	0,457 \pm 0,135 E n=5	0,378 \pm 0,338 n=5	0,044 \pm 0,029 d n=5
4	0,292 \pm 0,299 n=5	0,396 \pm 0,179 n=4	0,349 \pm 0,135 E n=5	0,291 \pm 0,221 n=5	0,052 \pm 0,038 d n=5
5	0,520 \pm 0,403 e n=5	0,631 \pm 0,305 n=4	0,891 \pm 0,552 E n=5	0,493 \pm 0,269 n=5	0,085 \pm 0,105 d n=5
7	0,218 \pm 0,106 n=3	0,565 \pm 0,189 n=4	0,514 \pm 0,377 E n=5	0,364 \pm 0,223 n=5	0,038 \pm 0,032 d n=4
9	0,340 \pm 0,267 e n=5	0,402 \pm 0,222 n=4	0,464 \pm 0,207 e n=5	0,392 \pm 0,173 n=5	0,080 \pm 0,122 d n=4
11	0,342 \pm 0,087 n=4	0,363 \pm 0,201 n=4	0,182 \pm 0,155 e n=5	0,345 \pm 0,179 n=5	0,023 \pm 0,018 n=4
13	0,253 \pm 0,103 n=3	0,317 \pm 0,358 n=4	0,109 \pm 0,065 n=5	0,326 \pm 0,224 n=5	0,080 \pm 0,118 n=4
15	0,092 \pm 0,054 n=4	0,121 \pm 0,026 n=3	0,142 \pm 0,100 n=5	0,144 \pm 0,096 n=5	0,065 \pm 0,069 n=5

a (p < 0,05)	A (p < 0,01)	vs. Retardform 2
b (p < 0,05)	B (p < 0,01)	vs. Solbone
c (p < 0,05)	C (p < 0,01)	vs. 1,25(OH) ₂ D ₃
d (p < 0,05)	D (p < 0,01)	vs. Kombination
e (p < 0,05)	E (p < 0,01)	vs. Kontrolle

Phosphor-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.12 zeigt die Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin während des Versuchszeitraumes von 15 Tagen. Die Anzahl der gewonnenen Urinproben ist pro Gruppe und Tag mit n angegeben. Während des Versuchszeitraumes wird ein deutlicher Anstieg der Werte sichtbar. Es sind sogar Anstiege bis zum 10fachen des Ausgangswertes von Tag 0 messbar (Retardform 2). Retardform 2 weist am Tag 0 signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede gegenüber der Kombination auf. An den Tagen 1, 2 und 5 werden signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe deutlich. Am Tag 5 zeigt sich zusätzlich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) gegenüber der Solbone Gruppe. Die Solbone Gruppe weist lediglich am Tag 0 einen signifikanten Unterschied gegenüber der Kombination und am Tag 2 einen signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrolle auf. Die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gruppe zeigt an den Tagen 3, 7 und 11 einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe. Die Kombination zeigt an den Tagen 0, 2, 5, 7, 11 und 13 einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.12: Versuch 2 –Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination

Versuch 2					
Phosphor / Kreatinin_{Urin}					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)₂D₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,059 \pm 0,021 d n=5	0,058 \pm 0,013 d n=5	0,061 \pm 0,009 n=5	0,084 \pm 0,033 e n=5	0,045 \pm 0,017 n=5
1	0,147 \pm 0,072 e n=5	0,076 \pm 0,017 n=5	0,086 \pm 0,042 n=5	0,168 \pm 0,099 n=4	0,063 \pm 0,024 n=4
2	0,436 \pm 0,409 e n=5	0,122 \pm 0,065 e n=5	0,158 \pm 0,123 n=5	0,333 \pm 0,309 e n=5	0,059 \pm 0,014 n=5
3	0,452 \pm 0,363 n=5	0,203 \pm 0,203 n=5	0,196 \pm 0,163 e n=5	0,185 \pm 0,237 n=5	0,066 \pm 0,011 n=5
4	0,531 \pm 0,388 n=5	0,142 \pm 0,146 n=4	0,168 \pm 0,163 n=5	0,281 \pm 0,341 n=5	0,057 \pm 0,011 n=5
5	0,327 \pm 0,295 be n=5	0,074 \pm 0,027 n=4	0,085 \pm 0,030 n=5	0,162 \pm 0,118 e n=5	0,064 \pm 0,008 n=5
7	0,239 \pm 0,157 n=3	0,068 \pm 0,013 n=4	0,083 \pm 0,054 e n=5	0,207 \pm 0,263 e n=5	0,046 \pm 0,009 n=4
9	0,115 \pm 0,088 n=5	0,073 \pm 0,009 n=4	0,068 \pm 0,008 n=5	0,069 \pm 0,009 n=5	0,065 \pm 0,009 n=4
11	0,141 \pm 0,075 n=4	0,077 \pm 0,017 n=4	0,080 \pm 0,015 e n=5	0,089 \pm 0,015 e n=5	0,059 \pm 0,009 n=4
13	0,134 \pm 0,111 n=3	0,073 \pm 0,015 n=4	0,059 \pm 0,010 n=5	0,098 \pm 0,059 e n=5	0,056 \pm 0,006 n=4
15	0,096 \pm 0,027 n=4	0,077 \pm 0,006 n=3	0,071 \pm 0,015 n=5	0,078 \pm 0,036 n=5	0,060 \pm 0,012 n=5

- | | | |
|---------------------|---------------------|--|
| a (p < 0,05) | A (p < 0,01) | vs. Retardform 2 |
| b (p < 0,05) | B (p < 0,01) | vs. Solbone |
| c (p < 0,05) | C (p < 0,01) | vs. 1,25(OH) ₂ D ₃ |
| d (p < 0,05) | D (p < 0,01) | vs. Kombination |
| e (p < 0,05) | E (p < 0,01) | vs. Kontrolle |

Kalium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.13 zeigt die Kalium-Kreatinin Quotienten im Urin über einen Versuchszeitraum von 15 Tagen. Die Anzahl der gewonnenen Urinproben pro Tag und Gruppe ist mit n angegeben. Hierbei ergibt sich lediglich am Tag 0 ein signifikanter Unterschied (p<0,05) der Retardform 2 gegenüber der Solbone Gruppe. Am Tag 7 weist die Kombination einen signifikanten Unterschied

($p < 0,05$) gegenüber der Kontrolle auf. Es lässt sich kein Anstieg oder Abfall der Werte während des Versuchszeitraumes feststellen. Geringe tägliche Schwankungen sind in allen Gruppen zu sehen, sie weisen kein bestimmtes Muster auf und sind auch in der Kontrollgruppe vorhanden.

Tabelle 4.13: Versuch 2 – Kalium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und der Kombination

Versuch 2					
Kalium / Kreatinin _{Urin}					
Tag	Retard 2 MW \pm SA n=5	Solbone MW \pm SA n=5	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ MW \pm SA n=5	Kombi MW \pm SA n=5	Kontrolle MW \pm SA n=5
0	22,52 \pm 2,79 b n=5	27,33 \pm 3,06 n=5	23,78 \pm 5,96 n=5	25,71 \pm 4,84 n=5	21,52 \pm 3,68 n=5
1	19,49 \pm 3,24 n=5	22,97 \pm 4,07 n=5	21,29 \pm 5,84 n=5	24,06 \pm 5,21 n=4	22,51 \pm 6,93 n=4
2	19,88 \pm 1,61 n=5	24,85 \pm 7,97 n=5	26,38 \pm 17,39 n=5	21,93 \pm 6,31 n=5	21,75 \pm 2,51 n=5
3	20,79 \pm 2,82 n=5	22,51 \pm 1,35 n=5	24,08 \pm 4,56 n=5	20,45 \pm 8,50 n=5	19,17 \pm 3,86 n=5
4	18,55 \pm 3,36 n=5	21,22 \pm 2,15 n=4	18,49 \pm 2,96 n=5	18,79 \pm 3,36 n=5	18,07 \pm 1,97 n=5
5	16,19 \pm 2,21 n=5	13,61 \pm 6,59 n=4	20,19 \pm 11,09 n=5	17,20 \pm 4,53 n=5	16,02 \pm 4,12 n=5
7	17,44 \pm 7,93 n=3	20,72 \pm 3,15 n=4	23,51 \pm 3,22 n=5	25,01 \pm 3,57 e n=5	18,45 \pm 4,46 n=4
9	0,89 \pm 0,81 n=5	1,14 \pm 2,08 n=4	0,80 \pm 1,35 n=5	2,18 \pm 2,71 n=5	1,14 \pm 0,90 n=4
11	25,42 \pm 3,49 n=4	28,34 \pm 7,78 n=4	26,83 \pm 4,94 n=5	25,38 \pm 6,84 n=5	20,47 \pm 5,04 n=4
13	18,46 \pm 2,05 n=3	22,27 \pm 4,64 n=4	20,86 \pm 3,72 n=5	19,61 \pm 6,97 n=5	18,91 \pm 2,20 n=4
15	20,76 \pm 2,55 n=4	19,46 \pm 1,12 n=3	18,99 \pm 5,37 n=5	20,45 \pm 6,03 n=5	16,95 \pm 4,28 n=5

- | | | |
|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| a ($p < 0,05$) | A ($p < 0,01$) | vs. Retardform 2 |
| b ($p < 0,05$) | B ($p < 0,01$) | vs. Solbone |
| c ($p < 0,05$) | C ($p < 0,01$) | vs. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ |
| d ($p < 0,05$) | D ($p < 0,01$) | vs. Kombination |
| e ($p < 0,05$) | E ($p < 0,01$) | vs. Kontrolle |

Natrium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.14 zeigt die Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin während eines Versuchszeitraumes von 15 Tagen. Die Anzahl der gewonnenen Urinproben pro Gruppe und Tag ist mit n angegeben. Nur am Tag 3 zeigt die 1,25(OH)₂D₃-Gruppe einen hoch signifikanten Unterschied ($p < 0,01$) gegenüber der Kombination. Ein kontinuierlicher Anstieg oder Abfall der Werte ist bei keiner der Gruppen zu sehen. Geringe tägliche Schwankungen sind in allen Gruppen, auch in der Kontrollgruppe sichtbar.

Tabelle 4.14: Versuch 2 –Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH)₂D₃ und der Kombination

Versuch 2					
Natrium / Kreatinin_{Urin}					
Tag	Retard 2	Solbone	1,25(OH)₂D₃	Kombi	Kontrolle
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	11,14 \pm 4,42 n=5	12,12 \pm 10,49 n=5	10,25 \pm 6,07 n=5	11,53 \pm 8,11 n=5	18,27 \pm 15,66 n=5
1	7,87 \pm 5,29 n=5	5,58 \pm 1,26 n=5	6,06 \pm 3,09 n=5	7,44 \pm 2,51 n=4	13,54 \pm 7,71 n=4
2	7,19 \pm 3,88 n=5	9,22 \pm 2,06 n=5	13,72 \pm 7,10 n=5	15,24 \pm 5,37 n=5	11,22 \pm 4,32 n=5
3	7,02 \pm 2,81 n=5	5,13 \pm 2,33 n=5	10,29 \pm 3,06 D n=5	6,43 \pm 1,70 n=5	10,41 \pm 7,59 n=5
4	7,14 \pm 3,63 n=5	7,64 \pm 4,73 n=4	9,44 \pm 6,70 n=5	6,80 \pm 6,03 n=5	7,20 \pm 3,66 n=5
5	8,73 \pm 0,97 n=5	6,88 \pm 4,39 n=4	10,57 \pm 7,41 n=5	7,38 \pm 3,66 n=5	12,54 \pm 9,62 n=5
7	0,73 \pm 0,29 n=3	1,81 \pm 2,75 n=4	1,27 \pm 1,48 n=5	1,60 \pm 1,70 n=5	2,23 \pm 1,85 n=4
9	0,89 \pm 0,81 n=5	1,14 \pm 2,08 n=4	0,80 \pm 1,35 n=5	2,18 \pm 2,71 n=5	1,14 \pm 0,90 n=4
11	8,41 \pm 6,48 n=4	11,37 \pm 6,32 n=4	11,03 \pm 3,60 n=5	8,43 \pm 3,53 n=5	17,10 \pm 14,34 n=4
13	10,15 \pm 6,07 n=3	9,50 \pm 5,92 n=4	10,18 \pm 6,81 n=5	10,35 \pm 2,94 n=5	15,02 \pm 10,70 n=4
15	2,72 \pm 2,06 n=4	5,88 \pm 6,20 n=3	4,56 \pm 3,92 n=5	6,92 \pm 7,03 n=5	4,61 \pm 4,30 n=5

- a** (p < 0,05) **A** (p < 0,01) vs. Retardform 2
b (p < 0,05) **B** (p < 0,01) vs. Solbone
c (p < 0,05) **C** (p < 0,01) vs. 1,25(OH)₂D₃
d (p < 0,05) **D** (p < 0,01) vs. Kombination
e (p < 0,05) **E** (p < 0,01) vs. Kontrolle

4.1.3 Versuch 3

4.1.3.1 Parameter im Serum

Calciumgehalt im Serum

Tabelle 4.15 zeigt die Serumcalciumwerte (MW \pm SA) über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Dabei bewegen sich die Serumcalciumwerte am

Tag 0 alle im Referenzbereich, der für das Rind mit 2,3 bis 2,8 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005) angegeben wird. Bereits am Tag 1 ist in allen Gruppen ein deutlicher Anstieg des Serumcalciumgehaltes zu sehen, der zwischen 5 % (Retard 1) und 11 % (Retard 4) liegt. Der größte Serumcalciumgehalt tritt in allen Gruppen am Tag 2 oder 3 auf, danach ist ein stetiger Abfall der Werte bis zum Tag 11 erkennbar. Die Werte der einzelnen Retardformen liegen sehr nahe beieinander. Die Schwankungen innerhalb einer Gruppe sind zwischen den Tieren nur sehr gering, die Standardabweichungen bewegen sich zwischen $\pm 0,01$ und $\pm 0,18$. Am Tag 1 unterscheiden sich die Retardform 1 und die Retardform 4 signifikant ($p < 0,05$) voneinander. Ansonsten werden zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen deutlich. Der Verlauf des Calciumspiegels konnte weder durch Alter, Gewicht oder Reproduktionsstatus signifikant beeinflusst werden.

Tabelle 4.15: *Versuch 3* – Calciumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils $n=5$)

Versuch 3				
Calcium_{Serum} (mmol/l)				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2,42 \pm 0,01	2,39 \pm 0,08	2,39 \pm 0,07	2,40 \pm 0,05
1	2,55 \pm 0,05 h	2,59 \pm 0,11	2,66 \pm 0,09	2,62 \pm 0,06
2	2,84 \pm 0,11	2,86 \pm 0,11	2,79 \pm 0,12	2,76 \pm 0,07
3	2,79 \pm 0,05	2,85 \pm 0,05	2,79 \pm 0,07	2,75 \pm 0,11
4	2,72 \pm 0,09	2,78 \pm 0,08	2,76 \pm 0,09	2,75 \pm 0,08
5	2,74 \pm 0,04	2,80 \pm 0,09	2,74 \pm 0,10	2,72 \pm 0,14
7	2,67 \pm 0,05	2,72 \pm 0,15	2,64 \pm 0,06	2,60 \pm 0,13
9	2,56 \pm 0,07	2,62 \pm 0,16	2,54 \pm 0,11	2,57 \pm 0,18
11	2,45 \pm 0,04	2,50 \pm 0,13	2,39 \pm 0,09	2,46 \pm 0,15

f ($p < 0,05$)

g ($p < 0,05$)

h ($p < 0,05$)

i ($p < 0,05$)

F ($p < 0,01$)

G ($p < 0,01$)

H ($p < 0,01$)

I ($p < 0,01$)

vs. Retardform 1

vs. Retardform 3

vs. Retardform 4

vs. Retardform 5

Phosphorgehalt im Serum

Tabelle 4.16 zeigt den Phosphorgehalt im Serum über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Am Tag 0 befinden sich noch alle Werte innerhalb des Referenzbereiches von 1,6 bis 2,3 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Schon am Tag 1 wird eine deutliche Erhöhung der Werte sichtbar, die sich zwischen 11 % (Retard 1) und 34 % (Retard 4) bewegt. Der Höhepunkt der Phosphorwerte ist in allen Gruppen am Tag 3 oder Tag 4 erreicht, wobei sich die höchsten Werte zwischen 3,07 und 3,29 mmol/l bewegen. Ab Tag 5 ist dann ein stetiger Abfall der Werte zu sehen, die am Tag 11 wieder annähernd den Ausgangswert von Tag 0 erreichen. Statistische Unterschiede zwischen den Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt erkennbar.

Tabelle 4.16: *Versuch 3* – Phosphorwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Phosphor_{Serum} (mmol/l)				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	2,29 \pm 0,19	2,07 \pm 0,07	1,99 \pm 0,09	2,11 \pm 0,11
1	2,54 \pm 0,18	2,49 \pm 0,21	2,67 \pm 0,21	2,69 \pm 0,16
2	3,26 \pm 0,22	3,09 \pm 0,11	3,07 \pm 0,26	3,22 \pm 0,10
3	3,24 \pm 0,28	3,19 \pm 0,16	3,07 \pm 0,33	3,20 \pm 0,23
4	3,26 \pm 0,16	3,06 \pm 0,14	3,01 \pm 0,21	3,29 \pm 0,23
5	3,18 \pm 0,25	3,12 \pm 0,26	3,12 \pm 0,28	3,24 \pm 0,15
7	2,77 \pm 0,14	2,69 \pm 0,35	2,59 \pm 0,20	2,76 \pm 0,25
9	2,29 \pm 0,16	2,34 \pm 0,27	2,17 \pm 0,21	2,45 \pm 0,36
11	2,26 \pm 0,16	2,38 \pm 0,18	2,15 \pm 0,20	2,31 \pm 0,28

f (p < 0,05)	F (p < 0,01)	vs. Retardform 1
g (p < 0,05)	G (p < 0,01)	vs. Retardform 3
h (p < 0,05)	H (p < 0,01)	vs. Retardform 4
i (p < 0,05)	I (p < 0,01)	vs. Retardform 5

1,25(OH)₂D₃-Gehalt im Serum

Tabelle 4.17 zeigt die mittleren 1,25(OH)₂D₃- Werte in pg/ml während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Dabei sind keine Standardabweichungen angegeben, da die Proben aller 5 Tiere einer Gruppe aus Kostengründen täglich gepoolt wurden. Dennoch ist auch hier eine deutliche Steigerung der Werte von Tag 0 zu Tag 1 zu erkennen. Wie auch schon in den Versuchen 1 und 2 liegt der

Höhepunkt des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - Gehaltes im Serum am Tag 1. Von Tag 0 zu Tag 1 ist eine enorme Erhöhung von 310 % (Retard 1) bis zu 929 % (Retard 4) zu sehen. Ab Tag 1 bis Tag 4 wird ein sehr deutlicher Abfall der Werte erkennbar, die dann spätestens am Tag 5 wieder annähernd den Ausgangswert von Tag 0 erreicht haben. Da die Proben gepoolt wurden, konnten keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden.

Tabelle 4.17: Versuch 3 – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte im Serum in pg/ml (MW, gepoolt) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
1,25(OH) ₂ D ₃ Serum (pg/ml)				
Tag	Retard 1 MW	Retard 3 MW	Retard 4 MW	Retard 5 MW
0	82,8	47,0	32,1	47,2
1	336,8	293,0	330,1	302,7
2	224,5	200,3	119,0	174,6
3	143,2	122,6	109,9	87,1
4	54,8	58,2	67,1	61,1
5	43,7	20,2	37,5	18,7
7	8,2	23,8	39,2	44,3
9	26,0	1,9	32,3	0
11	26,7	31,7	8,9	39,0

Magnesiumgehalt im Serum

Tabelle 4.18 zeigt die Serummagnesiumwerte (MW ± SA) in mmol/l während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Die Werte liegen fast alle im Referenzbereich, der für Magnesium mit 0,8 bis 1,3 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005) angegeben wird. Lediglich an den Tagen 1 bis 3 und am Tag 5 liegt bei einigen Tieren aller Gruppen eine leichte Hypomagnesiämie vor. Retardform 1 zeigt am Tag 9 einen signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied gegenüber der Retardform 4. Auch die Retardform 3 unterscheidet sich am Tag 9 signifikant ($p < 0,05$) von der Retardform 4, ansonsten unterscheiden sich die Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant voneinander.

Tabelle 4.18: *Versuch 3* –Magnesiumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Magnesium_{Serum} (mmol/l)				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,92 \pm 0,09	0,95 \pm 0,06	0,91 \pm 0,06	0,92 \pm 0,05
1	0,78 \pm 0,06	0,78 \pm 0,04	0,73 \pm 0,04	0,70 \pm 0,09
2	0,76 \pm 0,05	0,76 \pm 0,12	0,71 \pm 0,03	0,66 \pm 0,09
3	0,74 \pm 0,03	0,78 \pm 0,11	0,75 \pm 0,08	0,71 \pm 0,06
4	0,81 \pm 0,05	0,84 \pm 0,10	0,80 \pm 0,06	0,81 \pm 0,06
5	0,78 \pm 0,03	0,75 \pm 0,11	0,79 \pm 0,06	0,81 \pm 0,11
7	0,81 \pm 0,05	0,77 \pm 0,04	0,85 \pm 0,08	0,81 \pm 0,09
9	0,96 \pm 0,16 h	0,98 \pm 0,12 h	1,19 \pm 0,09	1,08 \pm 0,10
11	1,05 \pm 0,11	0,93 \pm 0,08	0,96 \pm 0,11	0,97 \pm 0,08

f (p < 0,05)

g (p < 0,05)

h (p < 0,05)

i (p < 0,05)

F (p < 0,01)

G (p < 0,01)

H (p < 0,01)

I (p < 0,01)

vs. Retardform 1

vs. Retardform 3

vs. Retardform 4

vs. Retardform 5

Kaliumgehalt im Serum

Tabelle 4.19 zeigt die Serumkaliumwerte (MW \pm SA) in mmol/l über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Alle Werte liegen zu jedem Zeitpunkt des Versuches innerhalb des Referenzbereiches von 3,5 – 4,5 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Am Tag 0 zeigt die Retardform 1 einen signifikanten Unterschied (p<0,05) gegenüber der Retardform 4. Die Retardform 3 zeigt am Tag 9 einen signifikanten Unterschied (p<0,05) gegenüber der Retardform 5. Auch die Retardform 4 zeigt gegenüber der Retardform 5 am Tag 4 und am Tag 9 einen signifikanten (p<0,05) Unterschied. Sonst sind keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

Tabelle 4.19: *Versuch 3* –Kaliumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Kalium_{Serum} (mmol/l)				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	4,18 \pm 0,24 h	4,00 \pm 0,13	3,87 \pm 0,14	4,16 \pm 0,21
1	4,22 \pm 0,23	4,21 \pm 0,14	4,09 \pm 0,33	4,26 \pm 0,23
2	4,27 \pm 0,24	4,18 \pm 0,06	4,12 \pm 0,27	4,32 \pm 0,17
3	3,99 \pm 0,20	4,29 \pm 0,28	4,16 \pm 0,45	4,09 \pm 0,22
4	4,12 \pm 0,17	4,11 \pm 0,20	4,03 \pm 0,18 i	4,28 \pm 0,16
5	4,04 \pm 0,10	4,15 \pm 0,10	4,08 \pm 0,13	4,24 \pm 0,25
7	4,17 \pm 0,31	4,32 \pm 0,48	4,15 \pm 0,32	4,26 \pm 0,24
9	3,99 \pm 0,12	4,12 \pm 0,24 i	4,10 \pm 0,24 i	4,43 \pm 0,11
11	4,16 \pm 0,16	4,33 \pm 0,32	4,02 \pm 0,21	4,23 \pm 0,27

f (p < 0,05)

g (p < 0,05)

h (p < 0,05)

i (p < 0,05)

F (p < 0,01)

G (p < 0,01)

H (p < 0,01)

I (p < 0,01)

vs. Retardform 1

vs. Retardform 3

vs. Retardform 4

vs. Retardform 5

Natriumgehalt im Serum

Tabelle 4.20 zeigt den Serumnatriumgehalt (MW \pm SA) in mmol/l über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Die Werte befinden sich zu jedem Zeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches, der für das Rind mit 135 – 157 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005) angegeben wird. Lediglich am Tag 11 weist die Retardform 3 einen hoch signifikanten Unterschied gegenüber der Retardform 5 auf. Ansonsten sind keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

Tabelle 4.20: *Versuch 3* – Natriumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Natrium_{Serum} (mmol/l)				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	150 \pm 1,9	150 \pm 0,8	150 \pm 1,4	150 \pm 1,2
1	150 \pm 1,3	150 \pm 2,0	150 \pm 0,8	151 \pm 1,2
2	151 \pm 0,6	150 \pm 1,5	150 \pm 1,6	151 \pm 0,9
3	150 \pm 0,3	151 \pm 1,3	151 \pm 1,2	150 \pm 0,8
4	148 \pm 1,4	149 \pm 1,1	150 \pm 1,2	150 \pm 0,7
5	147 \pm 1,2	148 \pm 0,7	147 \pm 0,8	149 \pm 1,2
7	147 \pm 0,6	147 \pm 2,4	148 \pm 0,8	148 \pm 1,4
9	146 \pm 0,9	146 \pm 1,6	146 \pm 0,8	147 \pm 1,3
11	146 \pm 1,5	146 \pm 0,8 I	147 \pm 1,5	149 \pm 1,0

^f (p < 0,05)

^F (p < 0,01)

vs. Retardform 1

^g (p < 0,05)

^G (p < 0,01)

vs. Retardform 3

^h (p < 0,05)

^H (p < 0,01)

vs. Retardform 4

ⁱ (p < 0,05)

^I (p < 0,01)

vs. Retardform 5

4.1.3.2 Parameter im Urin

Calcium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.21 zeigt die Calcium-Kreatinin Quotienten im Urin während des Versuchszeitraums von 11 Tagen. Zu Beginn des Versuches haben alle Behandlungsgruppen ungefähr denselben Ausgangswert (0,028 in Gruppe Retard 4) bis (0,045 in Gruppe Retard 3). Ein deutlicher Anstieg der Werte ist in allen Gruppen zu sehen. Die Retardform 4 zeigt den größten Anstieg der Werte mit dem Höhepunkt am Tag 7, hierbei zeigt sich ein enormer Anstieg um das ca. 20-fache. Die Retardform 1 zeigt am Tag 3 einen signifikanten Unterschied (p<0,05) gegenüber der Retardform 3. Die Retardform 3 zeigt im Vergleich zur Retardform 4 am Tag 5 einen signifikanten Unterschied (p<0,05). Während von Tag 0 bis Tag 4 eine deutliche Steigerung der Werte in allen Gruppen zu sehen ist, erkennt man an den Folgetagen deutliche Schwankungen in jeder Gruppe. Eine Tendenz zum Abfall der Werte gegen Ende des Versuches ist sichtbar. Der Calciumgehalt im Urin konnte weder von Alter, Gewicht oder Reproduktionsstatus signifikant beeinflusst werden.

Tabelle 4.21: *Versuch 3* – Calcium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Calcium/Kreatinin_{Urin}				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,030 \pm 0,018	0,045 \pm 0,035	0,028 \pm 0,007	0,037 \pm 0,018
1	0,195 \pm 0,206	0,208 \pm 0,144	0,264 \pm 0,204	0,399 \pm 0,317
2	0,467 \pm 0,375	0,270 \pm 0,121	0,384 \pm 0,217	0,465 \pm 0,324
3	0,429 \pm 0,209 g	0,226 \pm 0,110	0,505 \pm 0,300	0,404 \pm 0,332
4	0,351 \pm 0,323	0,182 \pm 0,063	0,413 \pm 0,372	0,392 \pm 0,339
5	0,231 \pm 0,150	0,099 \pm 0,063 h	0,361 \pm 0,289	0,290 \pm 0,251
7	0,342 \pm 0,159	0,278 \pm 0,189	0,592 \pm 0,319	0,343 \pm 0,198
9	0,261 \pm 0,204	0,175 \pm 0,141	0,370 \pm 0,272	0,197 \pm 0,068
11	0,149 \pm 0,147	0,313 \pm 0,260	0,134 \pm 0,117	0,125 \pm 0,070

f (p < 0,05)

F (p < 0,01)

vs. Retardform 1

g (p < 0,05)

G (p < 0,01)

vs. Retardform 3

h (p < 0,05)

H (p < 0,01)

vs. Retardform 4

i (p < 0,05)

I (p < 0,01)

vs. Retardform 5

Phosphor-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.22 zeigt die Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen. Zu Beginn des Versuches am Tag 0 befinden sich die Werte aller Gruppen nahezu auf dem gleichen Ausgangswert. Bereits am Tag 2 ist in allen Gruppen eine deutliche Steigerung der Werte zu sehen. Der Höhepunkt der Werte wird in allen Gruppen am Tag 5 erreicht. Hier sieht man z.T. eine Steigerung um das 10- fache im Vergleich zum Ausgangswert vom Tag 0 (siehe Retardform 1). Die Retardform 1 zeigt am Tag 1 einen signifikanten Unterschied (p<0,05) gegenüber der Retardform 4. Die Retardform 3 zeigt ebenfalls gegenüber der Retardform 4 am Tag 2 einen signifikanten (p<0,05) und am Tag 5 sogar einen hoch signifikanten (p<0,01) Unterschied. Ansonsten werden zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Behandlungsgruppen deutlich.

Tabelle 4.22: *Versuch 3* – Phosphor - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Phosphor/Kreatinin_{Urin}				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	0,047 \pm 0,015	0,050 \pm 0,018	0,041 \pm 0,011	0,048 \pm 0,028
1	0,063 \pm 0,012 h	0,108 \pm 0,084 h	0,037 \pm 0,014	0,057 \pm 0,041
2	0,136 \pm 0,111	0,303 \pm 0,181	0,146 \pm 0,104	0,208 \pm 0,257
3	0,150 \pm 0,101	0,318 \pm 0,129	0,166 \pm 0,087	0,226 \pm 0,220
4	0,498 \pm 0,516	0,803 \pm 0,346	0,407 \pm 0,214	0,514 \pm 0,603
5	0,488 \pm 0,518	0,634 \pm 0,200 H	0,203 \pm 0,098	0,380 \pm 0,459
7	0,134 \pm 0,166	0,191 \pm 0,180	0,065 \pm 0,015	0,131 \pm 0,105
9	0,074 \pm 0,036	0,175 \pm 0,143	0,054 \pm 0,012	0,073 \pm 0,042
11	0,090 \pm 0,007	0,153 \pm 0,139	0,082 \pm 0,007	0,104 \pm 0,031

f (p < 0,05)

g (p < 0,05)

h (p < 0,05)

i (p < 0,05)

F (p < 0,01)

G (p < 0,01)

H (p < 0,01)

I (p < 0,01)

vs. Retardform 1

vs. Retardform 3

vs. Retardform 4

vs. Retardform 5

Kalium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.23 zeigt die Kalium-Kreatinin Quotienten im Urin über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Unter den Behandlungsgruppen besteht zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied bezüglich dieser Werte. Die Werte schwanken zwischen $14,26 \pm 1,38$ und $21,93 \pm 2,57$. Tägliche Schwankungen sind in allen Gruppen zu sehen, eine stetige auf- oder absteigende Tendenz der Werte ist zu keinem Zeitpunkt erkennbar.

Tabelle 4.23: *Versuch 3* – Kalium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Kalium/Kreatinin <small>Urin</small>				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	20,24 \pm 4,09	20,36 \pm 6,56	18,88 \pm 3,91	20,37 \pm 4,03
1	18,37 \pm 4,13	17,47 \pm 3,39	18,53 \pm 3,86	18,96 \pm 2,05
2	18,87 \pm 3,74	21,46 \pm 3,13	19,24 \pm 6,27	19,21 \pm 3,33
3	15,02 \pm 4,90	14,82 \pm 4,63	14,76 \pm 2,40	16,67 \pm 1,40
4	17,57 \pm 4,75	19,17 \pm 3,03	19,11 \pm 4,27	20,17 \pm 2,87
5	19,11 \pm 4,75	20,11 \pm 5,14	20,63 \pm 4,39	21,93 \pm 2,57
7	14,26 \pm 1,38	16,86 \pm 3,41	16,57 \pm 5,18	15,43 \pm 2,01
9	16,22 \pm 6,37	16,31 \pm 5,05	16,64 \pm 3,99	15,40 \pm 1,29
11	18,92 \pm 2,01	20,34 \pm 5,41	17,74 \pm 0,66	20,36 \pm 2,94

f (p < 0,05)	F (p < 0,01)	vs. Retardform 1
g (p < 0,05)	G (p < 0,01)	vs. Retardform 3
h (p < 0,05)	H (p < 0,01)	vs. Retardform 4
i (p < 0,05)	I (p < 0,01)	vs. Retardform 5

Natrium-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4.24 zeigt die Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin über einen Versuchszeitraum von 11 Tagen. Tägliche Schwankungen sind in allen Gruppen sichtbar. Eine auf- oder absteigende Tendenz ist hier in allen Gruppen nicht erkennbar. Lediglich am Tag 5 weist die Retardform 3 einen signifikanten Unterschied (p<0,05) gegenüber der Retardform 5 auf.

Tabelle 4.24: *Versuch 3* – Natrium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)

Versuch 3				
Natrium/Kreatinin_{Urin}				
Tag	Retard 1	Retard 3	Retard 4	Retard 5
	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA	MW \pm SA
0	5,55 \pm 4,46	6,99 \pm 3,72	7,60 \pm 3,02	7,98 \pm 4,33
1	7,70 \pm 7,89	2,69 \pm 2,64	19,84 \pm 26,07	12,28 \pm 11,97
2	11,97 \pm 9,77	8,90 \pm 2,41	8,79 \pm 2,31	14,96 \pm 10,29
3	7,40 \pm 3,46	7,97 \pm 4,84	12,00 \pm 5,31	11,61 \pm 5,35
4	7,65 \pm 5,36	7,52 \pm 3,11	10,23 \pm 5,05	10,88 \pm 2,97
5	2,73 \pm 2,21	2,48 \pm 1,01 i	3,95 \pm 1,83	5,73 \pm 2,89
7	0,39 \pm 0,42	1,08 \pm 0,59	2,07 \pm 1,61	1,16 \pm 1,21
9	0,45 \pm 0,30	1,31 \pm 0,91	1,77 \pm 1,98	0,44 \pm 0,57
11	1,91 \pm 1,52	1,21 \pm 1,38	4,39 \pm 4,43	1,17 \pm 1,26

^f (p < 0,05)

^F (p < 0,01)

vs. Retardform 1

^g (p < 0,05)

^G (p < 0,01)

vs. Retardform 3

^h (p < 0,05)

^H (p < 0,01)

vs. Retardform 4

ⁱ (p < 0,05)

^I (p < 0,01)

vs. Retardform 5

4.2 Weender-Analyse und Mineralstoffgehalt des Futters

4.2.1 Weender-Analyse des Futters

Von der Total Mixed Ration wurden die Trockensubstanz (TS), der Rohproteingehalt (Rpr), der Rohfettgehalt (Rf), der Rohfaser (Rfa) -sowie der Rohaschegehalt (Ra) bestimmt. Die Anteile in % sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 4.25: Nährstoffgehalte im Futter nach Weenderanalyse

Futterart	TS (%)	Rpr (%)	Rfe (%)	Rfa (%)	Ra (%)
Versuch 1	36,8	11,8	1,9	27,3	7,1
Versuch 2	39,6	15,4	2,1	28,2	8,6
Versuch 3	40,4	15,2	2,0	27,9	7,0

4.2.2 Mineralstoffgehalt des Futters

Von den 3 verschiedenen Rationen, die bei den Versuchen 1 bis 3 angeboten wurden, wurde der Calcium-, der Phosphor-, der Kalium-, der Natrium- und der Magnesiumgehalt in g/kg Futter bestimmt. Die Ergebnisse der Analysen sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 4.26: Gehalt an Calcium (Ca), Phosphor (P), Kalium (K), Natrium (Na) und Magnesium (Mg) im Futter

Futterart	Ca (g/kg)	P (g/kg)	K (g/kg)	Na (g/kg)	Mg (g/kg)
Versuch 1	8,0	4,0	20,5	1,6	2,0
Versuch 2	9,6	4,6	22,8	1,6	3,0
Versuch 3	7,4	4,5	22,9	0,9	2,5

5 Diskussion

5.1 Kritik der Methodik

5.1.1 Zum Aufbau der Studie

In der vorliegenden Studie sollten verschiedene Präparationen von *S. glaucophyllum* hinsichtlich ihrer Wirkung und Wirkdauer auf verschiedene Parameter im Serum und im Urin getestet werden. Die Studie wurde in 3 aufeinanderfolgende Versuche unterteilt, da nicht genügend Rinder gleichen Alters zur Verfügung standen, um alle Testsubstanzen in einem Versuch zu verabreichen. In Versuch 1 wurde nur eine Präparation an 3 Tieren getestet (Retardform 1). Dieser Versuch sollte zeigen, ob das Präparat wirkt und wie lange die Wirkung anhält. Der Versuch war Voraussetzung für die Planung und Durchführung von Versuch 2 und Versuch 3. Die Tiere wurden in Gruppen zu je fünf Tieren unterteilt, da nur eine bestimmte Anzahl an Tieren zur Verfügung stand und mehrere Präparationen vergleichend eingesetzt werden sollten.

Um die Tiere zu schonen, wurde ab Tag 5 nur noch im Abstand von zwei Tagen Blut genommen, weshalb auch nur die Messwerte im Abstand von 24 h bzw. 48 h vorliegen. Ein eventuell auftretender Anstieg oder Abfall der Werte innerhalb dieser Zeitspanne, kann deshalb nicht beurteilt werden.

5.1.1.1 Auswahl der Probanden

Durch die Produktion unterschiedlicher Mengen Kolostrum bei einsetzender Laktation, wird der Calciumhaushalt von Kühen verschieden stark beeinflusst (ZEPPERITZ, 1990). Um den Wirkstoffspiegel und die Wirkdauer der verschiedenen Präparationen miteinander vergleichen zu können, wurden deshalb in der vorliegenden Studie Färsen eingesetzt. Die unterschiedlichen Rassen, welche zur Verfügung standen (siehe Tabelle 3.2) wurden gleichmäßig in die verschiedenen Gruppen eingeteilt. Der Reproduktionsstatus der Tiere spielte bei der Einteilung in die Gruppen ebenfalls eine Rolle. Da während der Trächtigkeit Calcium für den Einbau in das fetale Skelett benötigt wird (ALLEN & DAVIES, 1981), wurden trächtige und nicht trächtige Tiere möglichst gleichmäßig in die

Gruppen verteilt. Die trächtigen Tiere waren alle im 2.-3. Trächtigkeitsmonat. Der überwiegende Anteil der Gruppe, etwa 80 %, war nicht trächtig.

5.1.1.2 Zur Haltung und Fütterung der Tiere

Die Tiere waren alle in einem Boxenlaufstall untergebracht, welcher durch ein Fressgitter vom Stallgang abgetrennt war. Eine Hälfte war mit Stroh eingestreut, die andere Hälfte bestand aus Betonspaltenboden. Das Klima und die äußeren Bedingungen waren für alle Tiere dieser kleinen Herde gleich. Die Futterproben wurden zu Beginn des jeweiligen Versuches am Tag 0 direkt aus der frisch vorgelegten TMR genommen. Alle Tiere eines Versuches erhielten das gleiche Futter und die TMR wurde in ihrer Zusammensetzung während des gesamten Versuches nicht verändert. Tägliche geringe Schwankungen bei den Gehalten der TMR kommen natürlicherweise aber vor, da beispielsweise nicht jeder aus dem Silo entnommene Abschnitt die genau gleichen Nährwerte aufweist.

5.1.2 Zum Ablauf der Studie

5.1.2.1 Verabreichung des Bolus

Zur Verabreichung der Präparationen wurde die Boluseingabe gewählt, da dadurch gewährleistet werden konnte, dass die aufzunehmende Menge auch abgeschluckt wurde. In den Untersuchungen von FRICKE (1985) wurden die fein pulverisierten *S. glaucophyllum* Blätter in Wasser aufgeschwemmt und mittels einer Flasche per os eingegeben. Im Vergleich dazu scheint die von uns gewählte Boluseingabe weniger zeitintensiv und arbeitsaufwendig zu sein. In der tierärztlichen Praxis ist die Eingabe von Boli bereits eine etablierte Methode um Calcium zu verabreichen. Allerdings birgt die Boluseingabe auch gewisse Risiken. Nach unsachgemäßer Anwendung des Boluseingebers wurde in der Praxis von Pharynxperforation durch Boluseingabe berichtet. Die Kühe verweigerten die Verabreichung, worauf vermehrt Kraft zur Eingabe des Bolus angewendet wurde (BRAUN et al., 2004). Diese Problematik könnte durch Einmischen des *Solanum*-Extraktes in ein schmackhaftes Futter umgangen werden.

Die Boluseingabe erfolgte im Versuch 1 und Versuch 2 mit dem Boluseingaber Bovikalc® (BOEHRINGER INGELHEIM, Ingelheim). Der Durchmesser des Boluseingabers war größer als der Durchmesser der verabreichten Gelatinekapseln, was dazu führte, dass beim Eingeben sehr genau darauf geachtet werden musste, dass die Gelatinekapsel erst bei Erreichen des Zungengrundes aus dem Boluseingaber frei gegeben wurde. Da die Gelatinekapsel auch ohne Auslösen des Mechanismus aus dem Boluseingaber herausfallen konnte, musste der Kopf des Rindes beim Eingeben des Bolus bis zum Erreichen des Zungengrundes streng nach unten gehalten werden. Dieses Problem konnte durch den bei Versuch 3 eingesetzten Boluseingaber V-Grip Bolus Dispenser No 64322® (GENESIS Manufacturing Ltd., Melksham, England) umgangen werden. Der Durchmesser des Boluseingabers entsprach genau dem Durchmesser der einzugebenden Gelatinekapsel. Der Boluseingaber aus Versuch 3 bestand aus Hartplastik, was für die Rinder angenehmer zu sein schien, als der Bovikalc® Eingaber aus Metall.

5.1.2.2 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte nach bewährter Weise vorwiegend durch Punktion der V. coccygea. Zur Punktion dieser Vene bedarf es lediglich einer Fixation des Schwanzes. Bei Tieren, die drohten bei Punktion der V. coccygea auszuschlagen, wurde aus Sicherheitsgründen die V. jugularis dextra bzw. sinistra punktiert, hierzu wurde den Tieren zur Fixation zunächst ein Kopfstrickhalter angelegt.

5.1.2.3 Uringewinnung

Um das Risiko einer Infektion der Harnwege der Tiere durch tägliches Katheterisieren der Harnblase zu vermeiden, wurde auf die Gewinnung von Katheterurin verzichtet. Die Uringewinnung gelang durch sanftes bis kräftiges Streichen mittels eines Strohbündels in dorsoventraler Richtung ventral der Vulva. Der Mittelstrahlurin wurde in Urinbechern mit einem Volumen von 60 ml aufgefangen. Jedoch war es trotz geduldigen Vorgehens nicht immer möglich täglich von allen Tieren Urin zu gewinnen. Dennoch ließ sich während des Versuchsverlaufs erkennen, dass eine gewisse Konditionierung stattfand, denn die Uringewinnung nahm gegen Ende des Versuches wesentlich weniger Zeit in Anspruch als noch zu Beginn. Der Nachteil der Gewinnung von Spontanurin

besteht darin, dass geringe Mengen Kot beigemischt sein können. Deshalb wurden die Proben im Labor vor den Analysen etwa 5 Minuten stehen gelassen, damit sich diese Kotpartikel auf dem Boden des Urinbechers absetzen konnten.

5.1.2.4 Wahl der Beurteilungskriterien und Untersuchungsmethoden

Um die Eignung der verschiedenen Präparationen nach einmaliger Applikation zu prüfen, wurden die Parameter im Serum in Anlehnung an die Untersuchungen von FRICKE (1985) und SCHLÖTTERER-WIESER (2008) bestimmt. Im Hinblick auf den eventuellen Einsatz zur Prophylaxe der Gebärpause wurden die dafür wichtigen Serumparameter Calcium, Phosphor, Magnesium und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bestimmt. Daneben wurden die Parameter Kalium und Natrium im Serum mitbestimmt.

Da vom Menschen (LEVINE et al., 1985) und auch von Ratten und Hunden (PFITZER et al., 1978; KISTLER et al., 1989) bekannt ist, dass nach oraler Verabreichung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine Hypercalciurie und Hyperphosphaturie auftritt, war es auch hier von Interesse, ob und in welchem Maße beim Rind eine Hypercalciurie bzw. Hyperphosphaturie nach einmaliger Applikation von *S. glaucophyllum* in der Dosierung von 10 mg/kg KGW auftritt. Da nach den Ergebnissen aus Versuch 1 nicht klar war, ob die erhöhte Calciumausscheidung und Phosphatausscheidung über den Urin dann beendet ist, wenn auch der Serumcalcium – bzw. Serumphosphatspiegel wieder auf den Ausgangswert zurückgefallen ist, wurde im Versuch 2 zusätzlich an 2 weiteren Tagen Spontanurin gewonnen. Das hierbei erzielte Ergebnis wurde bei der Durchführung von Versuch 3 berücksichtigt (siehe 3.4 Probenentnahme).

Da die tägliche und individuelle, zum Teil sehr unterschiedliche Flüssigkeitsaufnahme der Rinder das Urinvolumen und somit die Urinkonzentration stark beeinflussen und verändern kann, war es sinnvoll, die Konzentration der Mengenelemente nicht auf das Urinvolumen, sondern auf eine relativ konstante Größe zu beziehen, wofür das Kreatinin gut geeignet ist. In allen Harnproben wurde die Konzentration an Calcium, Phosphor, Natrium, Kalium und Kreatinin bestimmt. Nach BOEHNCKE (1980) hat das Harnminutenvolumen nahezu keinen Einfluss auf die Menge des ausgeschiedenen Kreatinins. Dadurch ist das Verhältnis der Mineralstoffkonzentration zur Kreatininkonzentration ein

geeignetes Mittel, Fehler zu eliminieren, die bei Nichtberücksichtigen eventuell unterschiedlicher Harnminutenvolumina entstehen würden.

Die Bestimmung der Parameter erfolgte analog zu den Methoden, die auch SPIEKER (1989) zur Untersuchung des Spontanurins von Rindern verwendete.

5.1.3 Zur Dosierung des Wirkstoffs und der Verabreichungsform

Die Dosierung der *S. glaucophyllum* Präparationen wurde aus mehreren Gründen auf 10 mg/kg KGW festgelegt. Bei Vorversuchen mit einer nicht retardierten Form von *S. glaucophyllum* (FRITZ, unveröffentlicht) stellte sich heraus, dass keine unterschiedlichen Effekte zwischen der Dosierung von 10 mg/kg KGW und 20 mg/kg KGW zu sehen sind. Zum anderen sollte es sich um eine sichere Dosierung handeln, bei der keine unerwünschten Nebenwirkungen auftreten. Bei *S. glaucophyllum* muss beachtet werden, dass der Gehalt des 1,25(OH)₂D₃-Glycosids in den verschiedenen Chargen schwankt.

KUNZ und HÄNICHEN untersuchten im Jahr 1981 die Verträglichkeit, der in der Gebärpareseprophylaxe eingesetzten Mengen von *S. glaucophyllum*. Sie verabreichten jeweils 10 bzw. 20 g eines *Solanum*- Extraktes intraruminal an 5 oder 6 aufeinander folgenden Tagen. Dabei erhielten die Tiere täglich, je nach Körpergewicht zwischen 14–38 mg/kg KGW. Alle Tiere wurden nach etwa 3–4 Wochen geschlachtet und sowohl mikroskopisch, als auch makroskopisch auf Verkalkungen hin untersucht. Bis zu einer Dosierung von 18 mg/kg KGW und Tag waren nur leichte, mikroskopisch erkennbare Verkalkungen der Aorta abdominalis zu sehen.

FRICKE verabreichte 1985 in seiner Studie 15 mg/kg KGW pro Tag an 5 aufeinander folgenden Tagen, auch er konnte keine klinischen Symptome einer Kalzinose feststellen. Die in der vorliegenden Studie verwendete Dosierung von einmalig verabreichten 10 mg/kg KGW liegt somit weit unter den von KUNZ und HÄNICHEN (1981) ermittelten calcinogenen Mengen. Betrachtet man die Dosierungsvorschläge der anderen Autoren, so liegen sowohl die von MCMURRAY et al. (1983) empfohlenen Mengen von 80–120 g pro Tier, vor allem aber die von ROUX et al. (1979) vorgeschlagenen Dosierungen von 100–350 g pro Tier um ein Vielfaches über den in den eigenen Untersuchungen verabreichten Mengen.

In der vorliegenden Studie wurden die Tiere vor dem jeweiligen Versuchsbeginn gewogen, womit die Testsubstanz für jedes Tier individuell dosiert werden konnte. Durch die Bolusform konnte das Abschlucken der gewünschten Menge sichergestellt werden. Bei der gewählten Dosierung von 10 mg/kg KGW des *Solanum*-Extraktes, was einer analytisch bestimmten Menge von 0,5 µg/kg KGW 1,25(OH)₂D₃ entspricht, traten in dieser Studie keine klinischen Symptome einer Kalzinose auf. Da die Dosierung weit unter der von KUNZ und HÄNICHEN (1981) liegt, sollten auch keine mikroskopischen Verkalkungen nach einmaliger Verabreichung zu finden sein.

5.2 Kritik der Ergebnisse

5.2.1 Serumparameter

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Calcium-Konzentration

Zu Beginn des Versuches lag der Calciumgehalt im Serum sowohl bei den Kontroll-, als auch bei den Versuchstieren nahe bei 2,4 mmol/l und damit im physiologischen Referenzbereich, der mit 2,3 bis 2,8 mmol/l angegeben wird (KRAFT & DÜRR, 2005). Alle verabreichten Testsubstanzen führten zu einem deutlich signifikanten Anstieg der Calciumkonzentration im Serum (siehe Abb. 5.1), bereits bei der ersten Blutprobenentnahme nach Boluseingabe am Tag 1 konnte gegenüber der Kontrollgruppe ein Anstieg der Calciumkonzentration gemessen werden.

Die Retardform 2 zeigt von Tag 1 bis Tag 7 gegenüber dem synthetischen 1,25(OH)₂D₃ einen signifikanten Unterschied und erreicht in Versuch 2, gefolgt von der Kombination den deutlichsten Effekt. Dieser signifikante Unterschied kann nicht auf einer unterschiedlichen Dosierung zwischen den Tieren basieren, da jedes Tier zuvor gewogen wurde und pro kg KGW einheitlich 0,5 µg 1,25(OH)₂D₃ verabreicht wurden. Da die Menge des in den Pflanzen enthaltenen 1,25(OH)₂D₃-Glycosids zuvor analytisch bestimmt wurde, können auch schwankende Gehalte des Vitamin D₃- Metaboliten nicht Ursache für diesen signifikanten Unterschied sein.

In Abb. 5.1 ist deutlich zu sehen, dass die *S. glaucophyllum*- Präparationen zwischen Tag 2 und Tag 7 einen plateauartigen Verlauf aufweisen, während das synthetische $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ den Calciumgehalt im Serum früher abfallen lässt.

Am Tag 7 des Versuches liegen die Calciumwerte im Serum bei der Retardform 2 und der Kombination noch bei über 2,7 mmol/l, während sie beim synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ schon auf Werte unter 2,6 mmol/l abgefallen sind. Das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ liegt in den Präparationen in glycosidisch gebundener Form vor und muss im Pansen erst gespalten werden (SKLIAR et al., 1992). Hierdurch könnte die retardierende Wirkung entstehen, die den plateauartigen Verlauf des Calciumspiegels verursacht.

Auch die im Versuch 3 eingesetzten Präparationen zeigen ein Plateau im Zeitraum von Tag 2 bis Tag 7, wobei die Retardform 3 den deutlichsten Effekt auf den Calciumspiegel zeigt (siehe Abb. 5.2). Alle eingesetzten Testsubstanzen erreichen nach 11 Tagen wieder den Ausgangswert, dennoch zeigen die *S. glaucophyllum* Präparationen im Vergleich zum synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine verbesserte Wirksamkeit, die sich in dem plateauartigen Verlauf widerspiegelt.

Die *S. glaucophyllum* Präparationen könnten im Vergleich zum Einsatz des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine interessante Alternative sein. Bei gleicher Dosierung konnte nach Verabreichung der Präparationen ein höherer und plateauartiger Calciumspiegel im Serum erreicht werden. Durch den höheren Calciumspiegel könnte die Hypocalcämie bei kalbenden Tieren wesentlich besser und länger abgefangen werden. Zusätzlich wird durch den plateauartigen Verlauf ein längerer, annähernd gleich bleibender Calciumspiegel gewährleistet.

Die Standardabweichungen werden aus Gründen der Übersichtlichkeit in den folgenden Abbildungen nicht angegeben. Es muss beachtet werden, dass die Abszisse in den Abbildungen nach Tag 5 gebrochen ist, da ab diesem Zeitpunkt die Probenentnahme im Abstand von 48 Stunden stattfand.

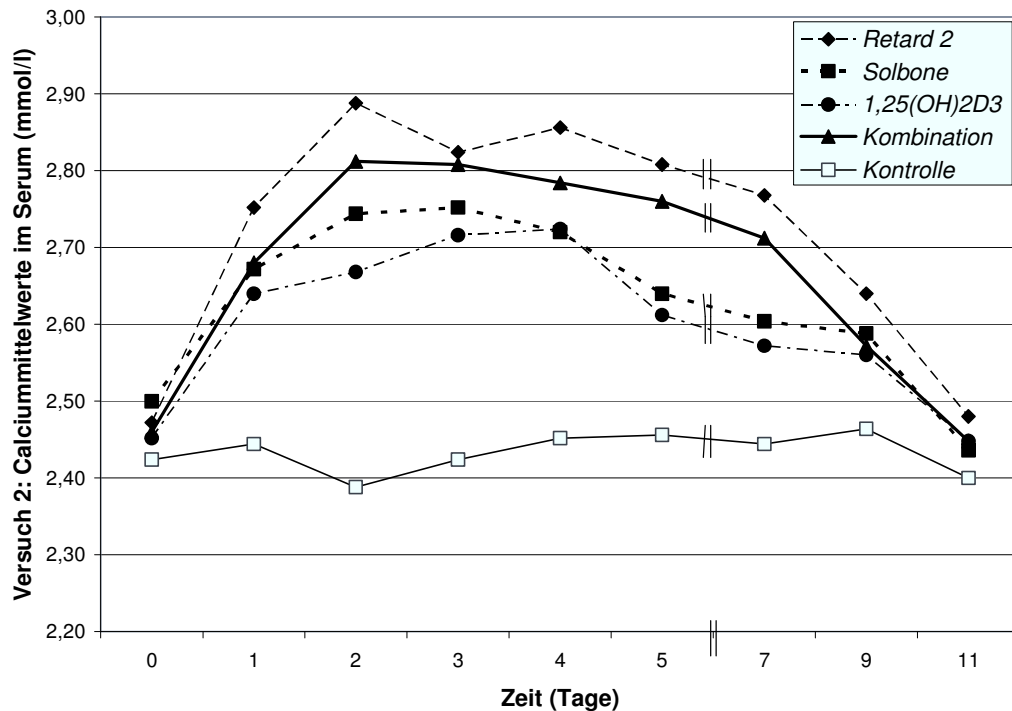


Abbildung 5.1: Versuch 2 - Calciummittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH)₂D₃, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Dass die Verabreichung von *S. glaucophyllum* (ROUX R. et al., 1979; FRICKE, 1985; HORST et al., 2003; SCHLÖTTERER-WIESER, 2008) oder 1,25(OH)₂D₃ (HOFFSIS et al., 1978; GAST et al., 1979; HOVE & KRISTIANSEN, 1982; HOVE et al., 1983) zu einem Anstieg der Calciumkonzentration im Serum führt ist allgemein bekannt. Der Anstieg des Calciumgehaltes ist auf die Wirkung des in allen Präparationen enthaltenen 1,25(OH)₂D₃- Glycosids zurückzuführen. Dieses bewirkt, wie unter 2.2 beschrieben, eine erhöhte Calciumabsorption aus dem Darm und eine verstärkte Rückresorption von Calcium in der Niere.

HOVE et al. (1983) konnten bei Versuchen an 6 nicht trächtigen, nicht laktierenden Jerseykühen ebenfalls einen Anstieg des Calciumspiegels für die Dauer von 11 Tagen erreichen. Sie verabreichten einmalig 500 µg synthetisches 1,25(OH)₂D₃ mit der Ration an die Tiere. Allerdings setzten sie mit 500 µg 1,25(OH)₂D₃ wesentlich höhere Dosierungen ein. Eine durchschnittliche Jerseykuh wiegt zwischen 350 und 400 kg (SAMBRAUS, 2001). Bei einer Dosis von 500 µg 1,25(OH)₂D₃ wurden folglich zwischen 1,4 und 1,3 µg/kg KGW

verabreicht. Dies entspricht in etwa der dreifachen Dosis im Vergleich zu den in der vorliegenden Studie eingesetzten Mengen.

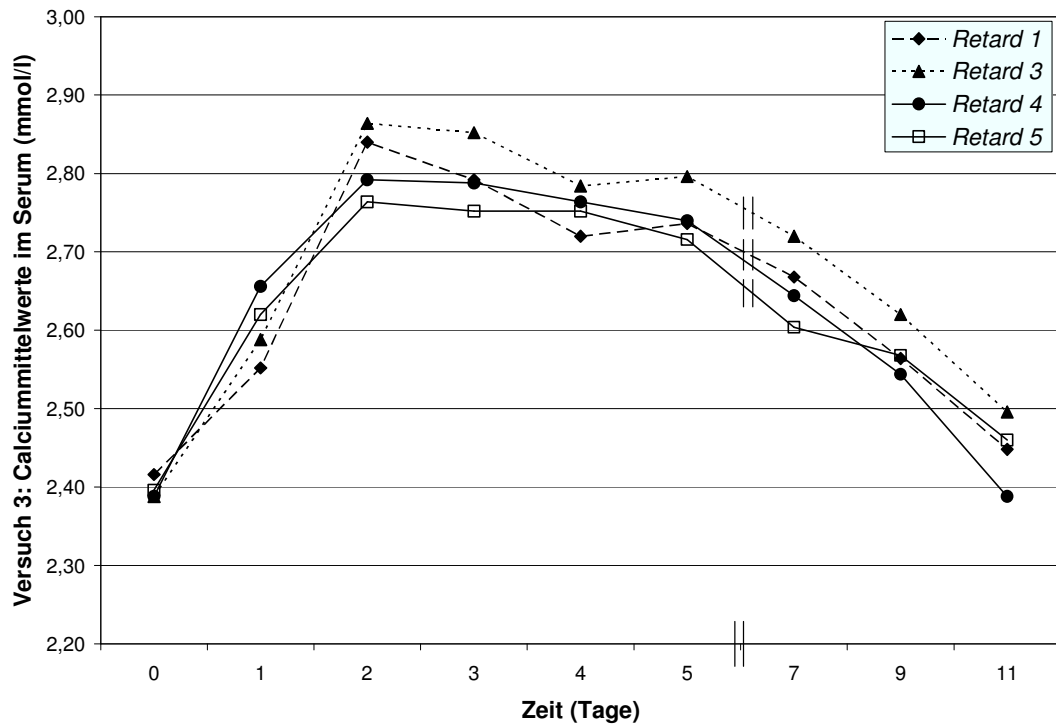


Abbildung 5.2: Versuch 3 - Calciummittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Im Vergleich zu den von FRICKE (1985) ermittelten Werten bezüglich der Wirkdauer von *S. glaucophyllum* auf den Calciumgehalt im Serum können Unterschiede zur vorliegenden Studie festgestellt werden. FRICKE (1985) verabreichte in einem Vorversuch seiner Studie fein pulverisierte, in Wasser aufgeschwemmte *S. glaucophyllum*-Blätter, an lediglich zwei nicht trächtige, laktierende Fleckviehkühe. Nach einmaliger Applikation von 15 g der Blätter, war der Calciumspiegel im Serum für die Dauer von 5 Tagen (von 2,3 mmol/l auf 2,6 mmol/l) erhöht. In einem weiteren Versuch verabreichte er je 15 g der Blätter am ersten Tag und dritten Tag des Versuches. Damit konnte der Calciumspiegel für die Dauer von 8 Tagen erhöht werden. (von 2,3 mmol/l auf 2,8 mmol/l). Die Studien können jedoch nicht direkt miteinander verglichen werden, da der Gehalt des 1,25(OH)₂D₃-Glycosids in *S. glaucophyllum* nicht bekannt war und chargenabhängig schwankt.

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Phosphorkonzentration

Neben der Hypocalcämie weist ein Großteil der erkrankten Kühe auch eine Hypophosphatämie auf (ZEPPERITZ, 1990), weshalb der Verlauf des Phosphorspiegels im Serum nach Verabreichung der Testsubstanzen untersucht wurde.

Zu Beginn des Versuches lag der Phosphorgehalt im Serum sowohl bei den Kontroll-, als auch bei den Versuchstieren annähernd im Referenzbereich, der mit 1,6 bis 2,3 mmol/l angegeben wird (KRAFT & DÜRR, 2005). Mit der Verabreichung der unterschiedlichen Testsubstanzen stieg neben der Calcium- auch die Phosphorkonzentration im Serum.

Alle im Versuch 2 verabreichten Testsubstanzen lassen den Phosphorspiegel ab Tag 1, im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich und signifikant ansteigen. Das synthetische $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verursacht hierbei den geringsten Anstieg des Phosphorspiegels. Ähnlich wie auch schon beim Calciumspiegel, scheinen die Retardform 2 und die Kombination, einen größeren, wenn auch nicht signifikanten Einfluss auf die Phosphorkonzentration zu haben.

Die *S. glaucophyllum* Präparationen in Versuch 2 bewirkten im Vergleich zum synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zwischen Tag 2 bis 4 einen mehr oder weniger plateauartigen Verlauf (siehe Abb. 5.3).

Die in Versuch 3 verabreichten *S. glaucophyllum* Präparationen bewirkten alle einen relativ ähnlichen Anstieg und Abfall des Phosphorspiegels im Serum. Zwischen Tag 2 und Tag 5 ist hier ebenfalls ein deutlicher plateauartiger Verlauf der Phosphorkonzentration zu sehen (siehe Abb. 5.4).

Nach etwa 9 bis 11 Tagen erreichte der Phosphorspiegel nach Verabreichung der Testsubstanzen aus den Versuchen 2 und 3 wieder den Ausgangswert.

Nach Verabreichung der *S. glaucophyllum* Präparationen an kalbende Tiere, sind diese damit möglicherweise in der Lage eine peripartal auftretende Hypophosphatämie zu kompensieren.

Der Anstieg der Phosphorkonzentration im Serum ist auf das verabreichte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zurückzuführen, das auch die Phosphoresorption im Verdauungstrakt fördert (KUTCHAI, 1998). Damit steigt das Calcium/Phosphor Verhältnis im Serum, wieder auf rund 2:1 an (JEROCH et al., 2008). Der Wiederkäuer weist gegenüber den Monogastriern in der Verdauungsphysiologie von Phosphor eine Besonderheit auf. Bei einer ausgewachsenen Kuh gelangen in Abhängigkeit von der Futterration rund 120 bis 200 Liter Speichel pro Tag in den Pansen. Der Phosphorgehalt im Speichel korreliert direkt mit der Konzentration im Blut und stellt damit einen regulativen Mechanismus der Phosphorhomöostase dar (HORST, 1986). Steigt der Phosphorgehalt im Blutplasma, so steigt auch der Phosphorgehalt im Speichel an. Da der Speichel somit mehr Phosphor enthält, gelangt eine größere Menge Phosphor in den Verdauungstrakt, die anschließend mit dem Kot ausgeschieden wird (SPIEKERS et al., 2009).

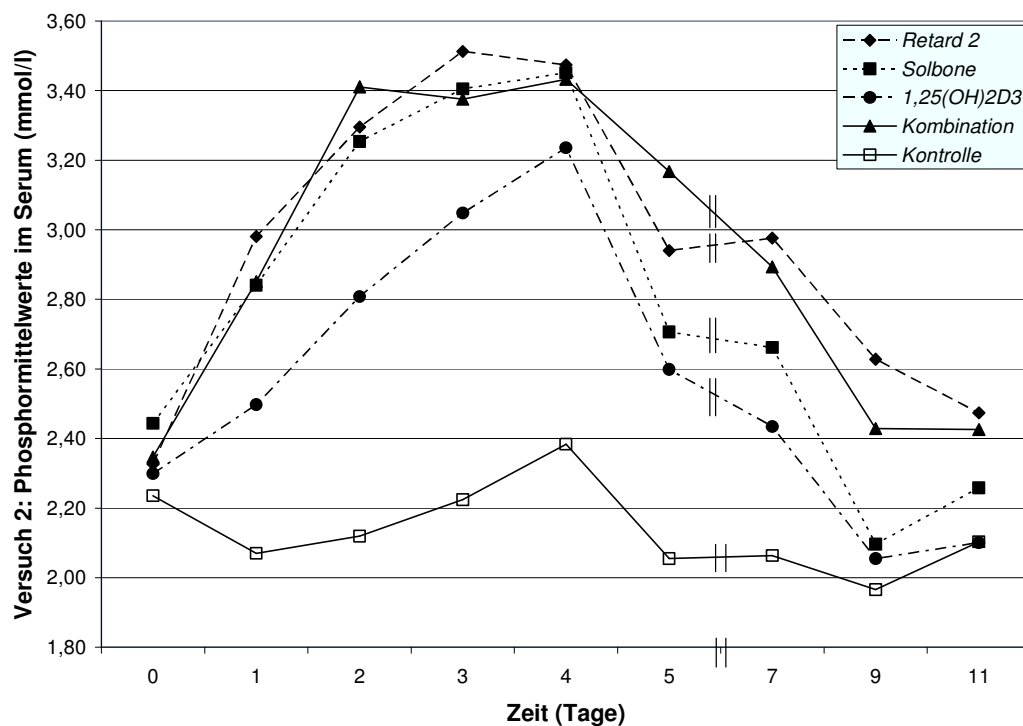


Abbildung 5.3: Versuch 2 - Phosphormittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Der Befund, dass durch Supplementierung von *S. glaucophyllum* und damit des 1,25(OH)₂D₃-Glycosids oder von synthetischem 1,25(OH)₂D₃ auch der Phosphorspiegel steigt, wurde auch in anderen Untersuchungen gezeigt (KUNZ, 1977; GAST et al., 1979).

KUNZ (1977) konnte in seinen Versuchen zur Verabreichung von *S. glaucophyllum* auch einen Anstieg der Phosphorkonzentration im Serum verzeichnen. Nach oraler Applikation von 20 g bzw. 50 g getrockneter, fein gemahlener Blätter in einer wässrigen Suspension an zwei nicht trüchtige, laktierende Kühe war der Phosphorspiegel auch nach Ende des Versuches am Tag 5 nach Applikation noch erhöht. Die maximale Phosphorkonzentration wurde, wie auch in der vorliegenden Arbeit, 72 Stunden nach Applikation gemessen.

FRICKE (1985) konnte mit einer einmaligen Verabreichung von 15 g *S. glaucophyllum*-Blättern per os an nicht laktierende Kühe einen Anstieg des Phosphorspiegels für die Dauer von 7 Tagen erreichen. Der Gehalt des 1,25(OH)₂D₃-Glycosids in den verwendeten Pflanzen ist nicht bekannt, weshalb die Studie nur schwer mit der vorliegenden Arbeit vergleichbar ist.

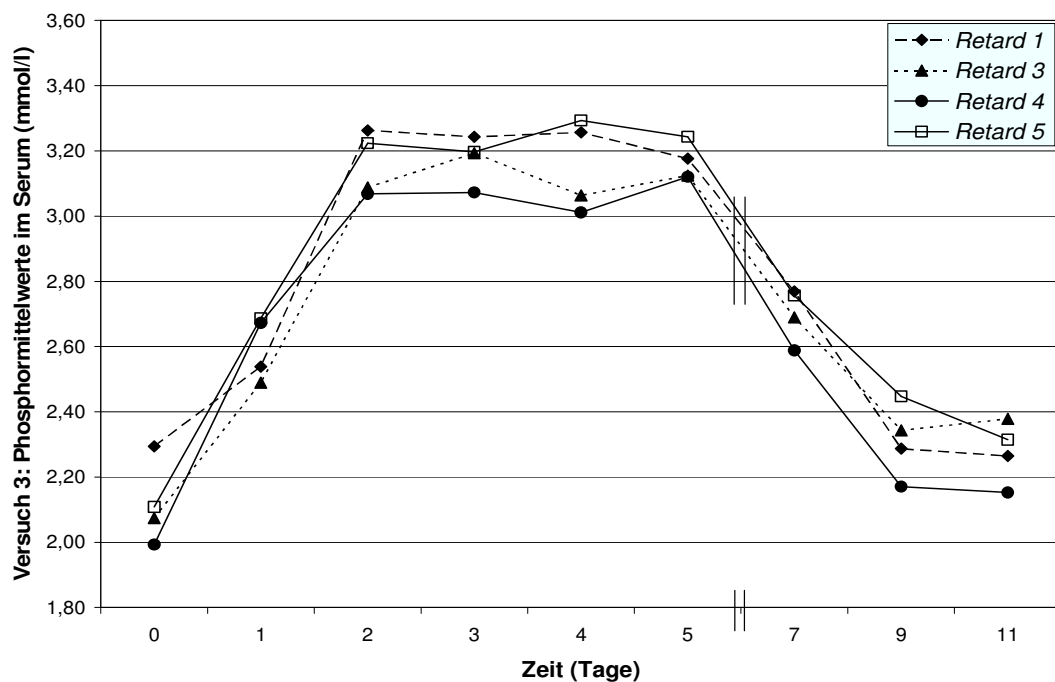


Abbildung 5.4: Versuch 3 - Phosphormittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf den 1,25(OH)₂D₃ Gehalt

Aus Kostengründen musste das Serum aller 5 Tiere einer Gruppe pro Tag gepoolt und darin der Gehalt an 1,25(OH)₂D₃ bestimmt werden. Deshalb war es nicht möglich, Standardabweichungen und statistisch signifikante Unterschiede anzugeben. Zu Beginn des Versuches lag der 1,25(OH)₂D₃- Gehalt im Serum sowohl bei den Kontroll-, als auch bei den Versuchstieren im Referenzbereich. Der Referenzbereich wird von HORST et al. (1982) für junge Rinder (4- 6 Monate alt) mit 48 ± 18 pg/ml und für ältere Rinder (48- 72 Monate alt) mit 38 ± 10 pg/ml angegeben.

Bereits am Tag 1 der Versuche stieg das 1,25(OH)₂D₃ im Serum im Vergleich zur Kontrolle erheblich an. Der Höchstwert konnte in allen Versuchen durchgängig bei allen Testgruppen am Tag 1 gemessen werden, hierbei wurden Werte von bis zu 734 pg/ml erreicht (Versuch 1). Der große Anstieg des 1,25(OH)₂D₃ im Serum ist auf das exogen zugeführte synthetische 1,25(OH)₂D₃ bzw. das 1,25(OH)₂D₃-glycosidhaltige *S. glaucophyllum* zurückzuführen.

Bereits nach Tag 1 fällt der 1,25(OH)₂D₃- Spiegel rapide wieder ab, so dass der Wert beim synthetischen 1,25(OH)₂D₃ und bei Solbone am Tag 2 nur noch etwa halb so hoch lag, wie am Tag 1. Nach Verabreichung aller Testsubstanzen aus den 3 Versuchen wurde am Tag 3 oder 4 wieder annähernd der Ausgangswert erreicht. Die *S. glaucophyllum* Präparationen verhalten sich im Vergleich untereinander ähnlich. Auffallend ist, dass die Verabreichung der Präparationen in Versuch 2 im Vergleich zum synthetischen 1,25(OH)₂D₃ oder zur nicht retardierten Form einen größeren Anstieg des 1,25(OH)₂D₃ im Serum zur Folge hat.

Im Gegensatz zum Calcium- und Phosphorspiegel im Serum weist der Verlauf des 1,25(OH)₂D₃- Spiegels kein Plateau auf (siehe Abb. 5.5 und 5.6). In Versuch 2 zeigt sich, dass die Verabreichung der Retardform 2 den höchsten Anstieg des 1,25(OH)₂D₃ im Serum zur Folge hat. Dies spiegelt sich auch sehr deutlich im Verlauf der Calcium- und Phosphorkonzentration wider.

Die einmalige Gabe von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in reiner oder glycosidisch gebundener Form führt zu einem etwa 11 Tage andauernden Anstieg des Calcium- und Phosphorspiegels im Serum. Der Calcium- und Phosphorspiegel bleibt also auch nach Abfall des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum noch viel länger erhöht.

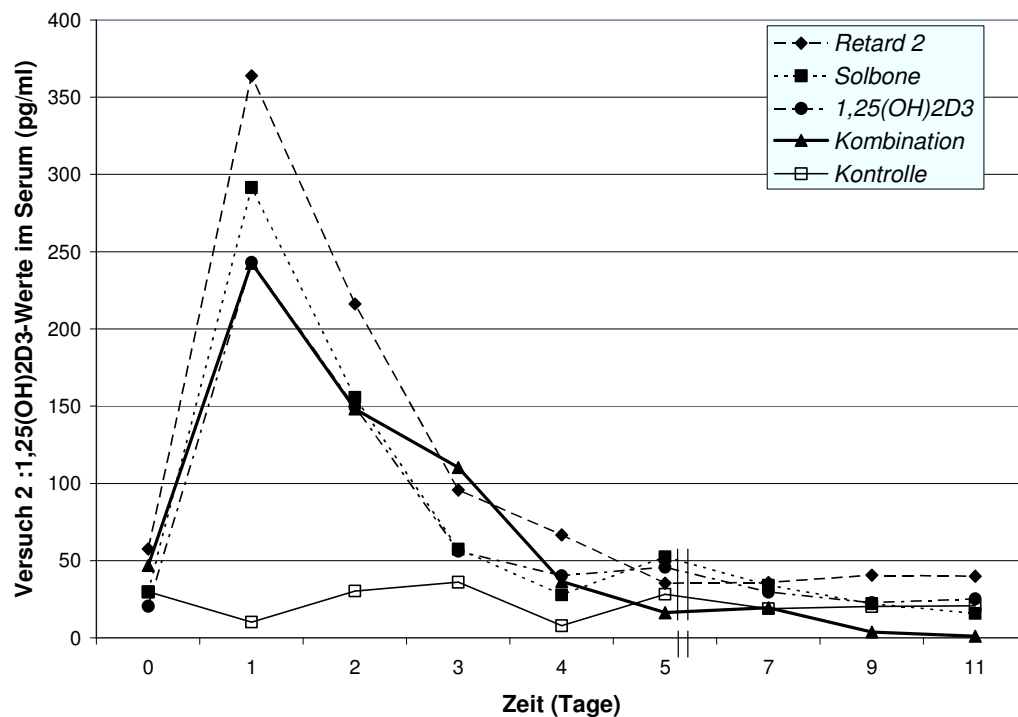


Abbildung 5.5: Versuch 2 - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - Mittelwerte (gepoolt) im Serum in pg/ml der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

HOVE et al. (1983) verabreichten einmalig $500 \mu\text{g}$ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an 6 nicht trächtige, nicht laktierende Jerseykühe per os. Das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ war dabei in Pellets eingemischt. Der Höchstwert des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum konnte wie in unserer Studie bereits 24 Stunden nach der Applikation gemessen werden (280 pg/ml). Weiterhin konnten die Autoren zeigen, dass der Anstieg des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum nicht nur von der Menge des verabreichten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ abhängig ist, sondern auch von der Applikationsart. Bei Verabreichung gleicher Mengen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entweder per os oder i.m. wurden bei der oralen Applikationsform bis zu fünfmal geringere Werte des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum erreicht. Erklärungen hierfür konnten nicht gefunden werden.

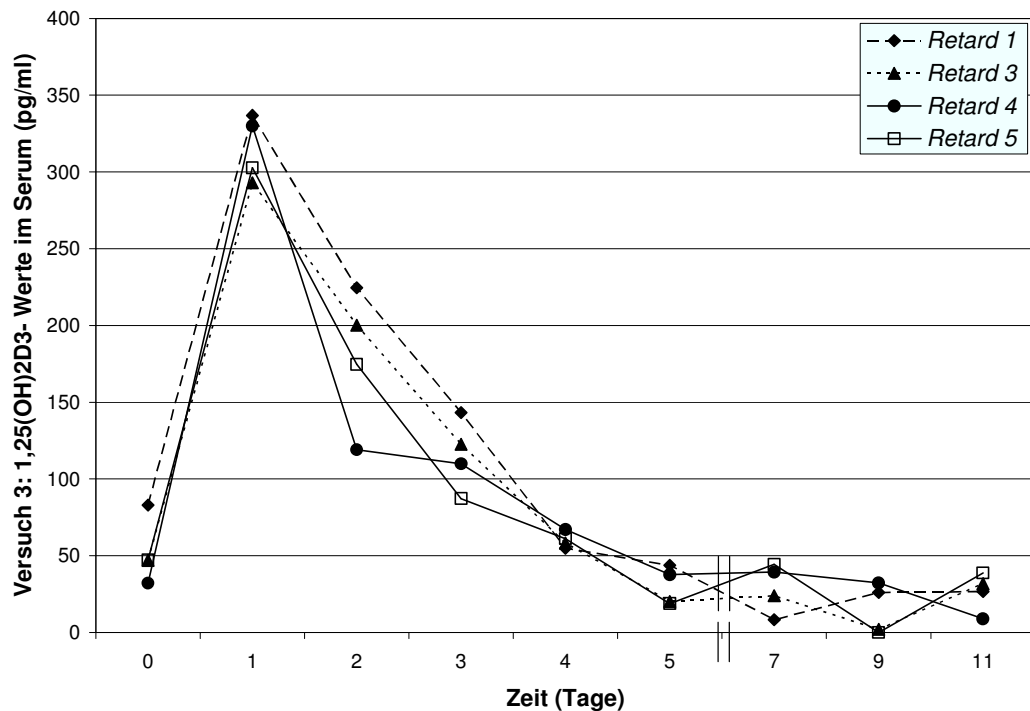


Abbildung 5.6: Versuch 3 - 1,25(OH)₂D₃-Werte im Serum (gepoolt) in pg/ml der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

YAMAGISHI et al. (2005) verabreichten 1,25(OH)₂D₃ in einer Dosierung von 1 µg/kg KGW an hochträchtige Kühe. Durch den gleichzeitigen Einsatz von 25 mg Prostaglandin F_{2α} wurde die Geburt eingeleitet. Fünf Tage nach Geburt zeigte sich ein starker Abfall des 1,25(OH)₂D₃-Spiegels im Serum, der vermutlich auf der Hemmung der endogenen Synthese des 1,25(OH)₂D₃ durch dessen exogene Zufuhr basiert (LITTLEDIKE et al., 1986; NAITO et al., 1989). Durch den starken Abfall des 1,25(OH)₂D₃-Gehaltes im Serum erkrankte eine Kuh 4 Tage post partum an Gebärparese.

Es wäre denkbar, dass bei Gabe des 1,25(OH)₂D₃-Glycosids die Eigensynthese von 1,25(OH)₂D₃ im Tier verringert wird. Das Absinken des Calciumspiegels im Serum direkt nach dem Abkalben kann zwar durch die exogene Zufuhr von 1,25(OH)₂D₃ vermieden werden, eventuell tritt aber nach dem Abfall des exogen zugeführten 1,25(OH)₂D₃ eine spätere Hypocalcämie auf. Dieser Problematik sollte besondere Achtung geschenkt werden.

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Magnesium-Konzentration

Neben der schon erwähnten Hypocalcämie ist bei festliegenden Kühen i.d.R. eine leichte Hypermagnesiämie feststellbar (MARTIG, 2002). In vorliegender Studie wurde deshalb auch der Verlauf der Magnesiumkonzentration im Serum bestimmt.

Der Magnesiumspiegel veränderte sich im Versuchsverlauf nur geringgradig. Die Werte der Versuchs- und Kontrolltiere lagen weitgehend innerhalb des von KRAFT et al. (2005) definierten Referenzbereichs von 0,8 bis 1,3 mmol/l. Der niedrigste Wert ist am Tag 4 in der Solbone Gruppe mit 0,7 mmol/l zu verzeichnen. HOFMANN (2005) gibt den unteren Referenzwert für Magnesium im Serum mit 0,6 mmol/l an. Damit entwickelten die Tiere während des Versuches keine Hypo- oder Hypermagnesiämie.

Bei Studien zum Einsatz von *S. glaucophyllum* an laktierenden Kühen konnten sowohl FRICKE (1985), als auch SCHLÖTTERER-WIESER (2008) keinen Einfluss auf den Magnesiumgehalt im Serum feststellen. Gegenteilige Ergebnisse erzielten HOVE et al. (1983) bei ihrer Studie. Nach einmaliger Verabreichung von 500 µg 1,25(OH)₂D₃ per os an sechs nicht trächtige, nicht laktierende Jerseykühe sank der Magnesiumspiegel im Serum um durchschnittlich 20 %.

Einfluss der *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Kalium- und Natriumkonzentration

Die Kaliumwerte im Serum lagen in allen 3 Versuchen, bei allen Gruppen im Referenzbereich von 3,5 bis 4,5 mmol/l (KRAFT & DÜRR, 2005). Die Serumnatriumwerte lagen weitgehend innerhalb des Referenzbereiches, der mit 135 bis 157 mmol/l angegeben wird (KRAFT & DÜRR, 2005). Derzeit ist nicht bekannt, dass Vitamin D oder dessen Metaboliten einen Einfluss auf den Kalium- oder auf den Natriumgehalt im Serum haben.

5.2.2 Urinparameter

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Calciumausscheidung über den Urin

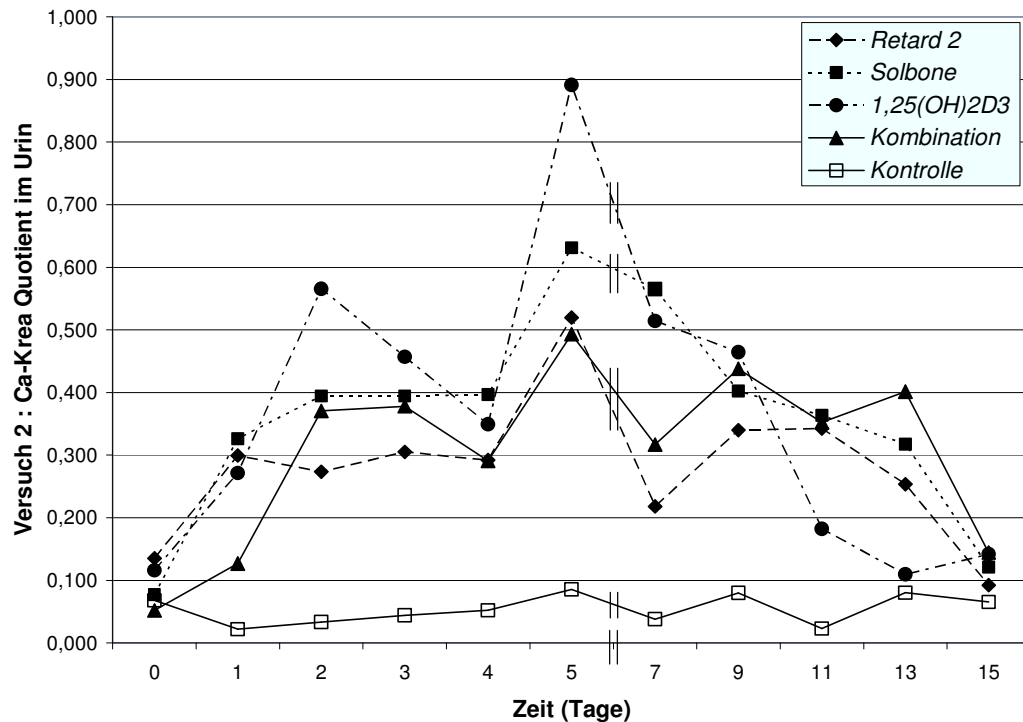


Abbildung 5.7: Versuch 2 - Calcium / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH)₂D₃, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrollgruppe während eines Versuchszeitraums von 15 Tagen

Es ist bekannt, dass unter Einfluss von 1,25(OH)₂D₃ die Calciumausscheidung über den Urin deutlich ansteigt. HOVE (1983) verabreichte 500 µg 1,25(OH)₂D₃ an sechs nicht trächtige, nicht laktierende Jerseykühe. Bei einem Anstieg des Calciumgehaltes im Serum auf 2,7 mmol/l konnte er auch einen Anstieg der Calciumausscheidung um 20 % beobachten.

Beim Menschen können schon geringe Mengen 1,25(OH)₂D₃ eine Hypercalciurie verursachen. Bei einer einmaligen per os Verabreichung von nur 0,5 µg pro Person und Tag konnten LEVINE et al. (1985) einen Anstieg von 15 % der Calciumexkretion über die Nieren zeigen. Wurden zweimal 0,5 µg im Abstand von 12 Stunden verabreicht, so konnte sogar ein Anstieg von ca. 90 % gemessen werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch KRAFT et al. (1977) in ihrer Studie an Ratten. Nach Verabreichung von *S. glaucophyllum* an die Tiere, konnte eine Steigerung der Calciumausscheidung mit dem Urin um das bis zu 5- fache im Vergleich zur Kontrollgruppe erreicht werden.

Zu Beginn der Versuche in der vorliegenden Studie lagen die Calcium/Kreatinin Quotienten sowohl bei den Kontroll-, als auch bei den Versuchstieren im Bereich von 0,03 bis 0,14.

Schon am Tag 1 wird in allen Testgruppen der drei Versuche ein deutlicher Anstieg der Werte sichtbar (siehe Abb. 5.7 und 5.8). Die Retardform 2, die Gruppe Solbone und die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Gruppe zeigen am Tag 1 schon signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe. Von Tag 1 bis Tag 11 sind statistisch signifikante Unterschiede zwischen der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Gruppe und der Kontrollgruppe messbar.

Nach Verabreichung des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist die Calciumausscheidung verglichen mit den Präparationen von *S. glaucophyllum* am höchsten, aber die Einzelwerte streuen stark. Vergleicht man die Präparationen untereinander, so sind kaum signifikante Unterschiede zu messen. Auffallend ist nicht nur der Anstieg der Werte, der in allen Testgruppen zu sehen ist, sondern auch die große Standardabweichung innerhalb der Tiere einer Gruppe. Im Gegensatz zum Calciumverlauf im Serum, unterliegt die Calciumausscheidung großen täglichen Schwankungen. Es ist zwar generell ein Anstieg der Ausscheidung zu sehen, doch ist dieser Anstieg nicht stetig (siehe Abb. 5.7).

SPIEKER (1989) konnte nach Auswertung von 448 Spontanharnproben weiblicher schwarzbunter Rinder zeigen, dass die Calciumexkretion, sowie die Phosphor- und die Natriumausscheidung einem cirkadianen Rhythmus unterliegen. Dabei lag das Ausscheidungsmaximum um Mittag und das – minimum in der Nacht. Ein Einfluss des Melk- und Fütterungszeitpunktes konnte von SPIEKER ausgeschlossen werden. Die Schwankungen der Calciumausscheidung bei unseren Untersuchungen könnten auf diese Tatsache zurückzuführen sein.

Desweiteren könnten die Schwankungen in der Calciumausscheidung in der vorliegenden Studie aufgrund normalerweise vorkommender technisch bedingter Ungenauigkeiten bei den Messungen von Calcium und Kreatinin entstanden sein. Bei der Bestimmung des Calciums und des Kreatinins werden stets Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Werte aus den Doppelbestimmungen dürfen nicht mehr als 10 % auseinander liegen. Danach wird das arithmetische Mittel beider Werte errechnet. Da der Calcium/Kreatinin Quotient eine errechnete Größe aus den jeweiligen Mittelwerten der Calcium- und Kreatininbestimmung ist, könnten sich diese „Messfehler“ potenzieren, was bedeutet, dass der Calcium/Kreatinin Quotient mit einem hohen Fehler behaftet ist.

Auch CAPEN et al. (1977) konnten in ihren Versuchen Schwankungen der Calciumausscheidung über den Urin beobachten. Nach einmaliger i.v.-Verabreichung verschiedener Dosierungen (30 µg, 90 µg, 270 µg und 600 µg) von synthetischem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an fünf nicht trächtige Kühe stieg die Calciumausscheidung im Vergleich zur Kontrollgruppe um bis zu 450 % an. Dabei ist interessant, dass die höchste Calciumexkretion bei der Verabreichung von 270 µg zu sehen war. Die Ausscheidung des Calciums scheint nicht unbedingt mit der verabreichten Menge $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu korrelieren.

Die von SPIEKER (1989) gemessenen Werte für das Calcium/Kreatinin Verhältnis im Urin können als Richtwert dienen. In seinen Untersuchungen werden Werte von 0,200 nicht überschritten. In der vorliegenden Arbeit wird dieser Wert in allen Testgruppen überschritten. Der erhöhte Calciummetabolismus nach Verabreichung der Präparationen oder auch des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ spiegelt sich auch in der Erhöhung der Calciumausscheidung wider. Durch das hohe Angebot an Calcium, das dem Organismus zur Verfügung steht, wurde vermehrt Calcium über die Nieren ausgeschieden und infolge der Calciumhomöostase weniger Calcium aus dem Primärfiltrat rückresorbiert (HIERHOLZER & FROMM, 1987).

Etwa 15 Tage nach Verabreichung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Glycosids mit den Präparationen und des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sinkt die Calciumausscheidung über die Nieren wieder auf den Ausgangswert. Die erhöhte Calciumexkretion mit dem Urin birgt auch das Risiko der Calciumeinlagerung und Steinbildung in den Nieren (MELLO, 2003). Deshalb wäre ein Präparat wünschenswert, das den

Calciumspiegel im Serum wirkungsvoll nur soweit anhebt, dass nicht vermehrt Calcium mit dem Urin ausgeschieden wird. Die einmalige Applikation, der in dieser Studie eingesetzten geringen Mengen des *S. glaucophyllum*- Extraktes sollte nicht zu einer Verkalkung der Nieren führen.

Die Verabreichung von Vitamin D-Metaboliten führt zu einem Anstieg der Calciumkonzentration im Serum, aber auch zu einer vermehrten Calciumausscheidung über den Urin. Der Verlust von Calcium über den Urin ist aber nicht so hoch, wie die Mobilisierung von Calcium aus dem Knochen und die Bereitstellung aus dem Futter.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass *S. glaucophyllum* den Calciumserumspiegel stärker ansteigen lässt, als das synthetische $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Gleichzeitig wird bei Gabe der *S. glaucophyllum* Präparationen weniger Calcium über den Urin ausgeschieden, als unter Einfluss des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

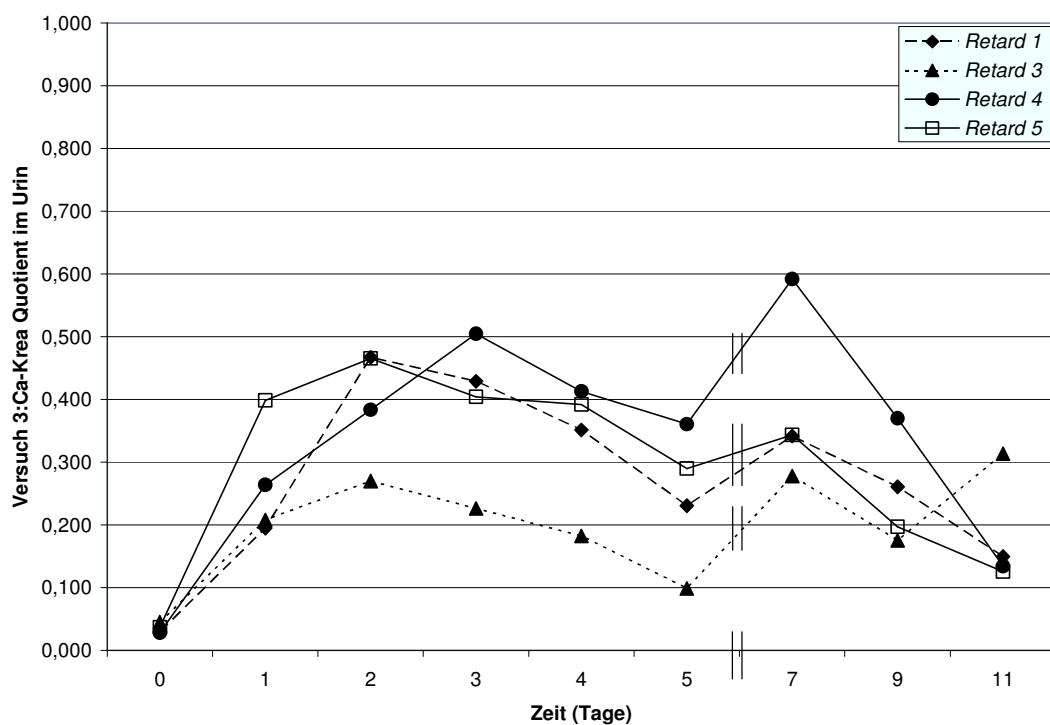


Abbildung 5.8: Versuch 3 - Calcium / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Phosphorausscheidung über den Urin

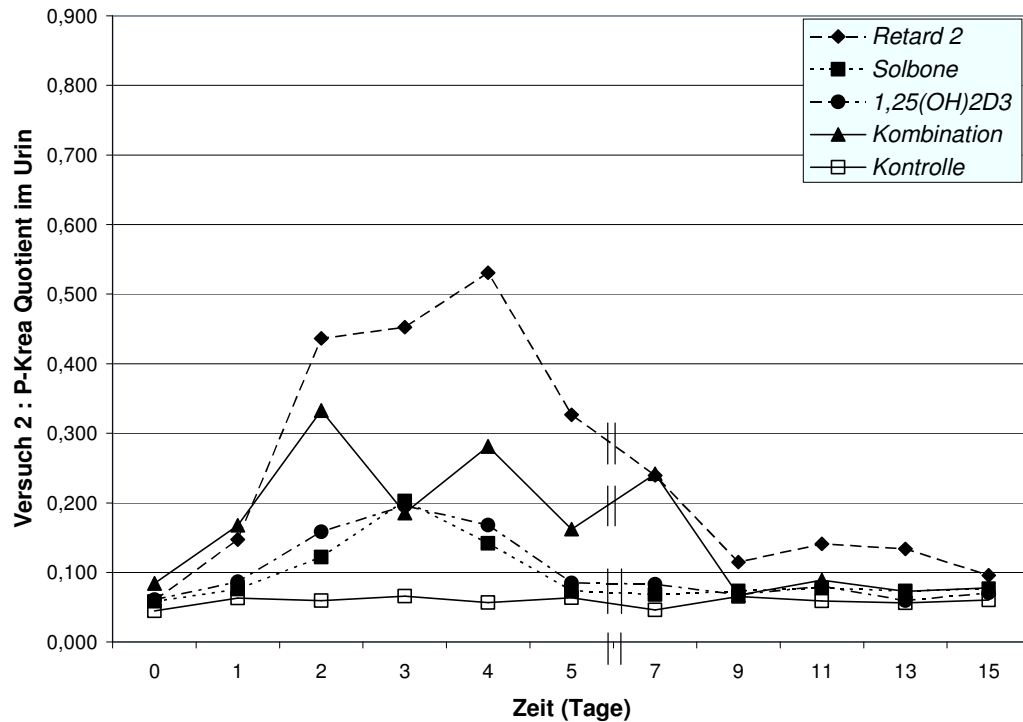


Abbildung 5.9: Versuch 2 - Phosphor / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH)₂D₃, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrollgruppe während eines Versuchszeitraums von 15 Tagen

CAPEN et al. (1977) konnten in einer Studie an nicht trächtigen Kühen zeigen, dass nach Verabreichung von 270 µg 1,25(OH)₂D₃ die Ausscheidung von Phosphor über den Urin auf bis zu 400 % ansteigt.

Zu Beginn der Versuche in der vorliegenden Studie lagen die Werte der Versuchs- und Kontrolltiere in den drei Versuchen zwischen 0,04 und 0,14. Bereits am Tag 2 ist ein Anstieg der Phosphorexkretion mit dem Urin bei den Testgruppen, im Vergleich zur Kontrollgruppe zu sehen. SPIEKER (1989) gibt einen Höchstwert des Phosphor/Kreatinin Quotienten an, der bei 0,500 liegt. Dieser Wert wird lediglich durch die Phosphorausscheidung nach Verabreichung der Retardform 3 überschritten.

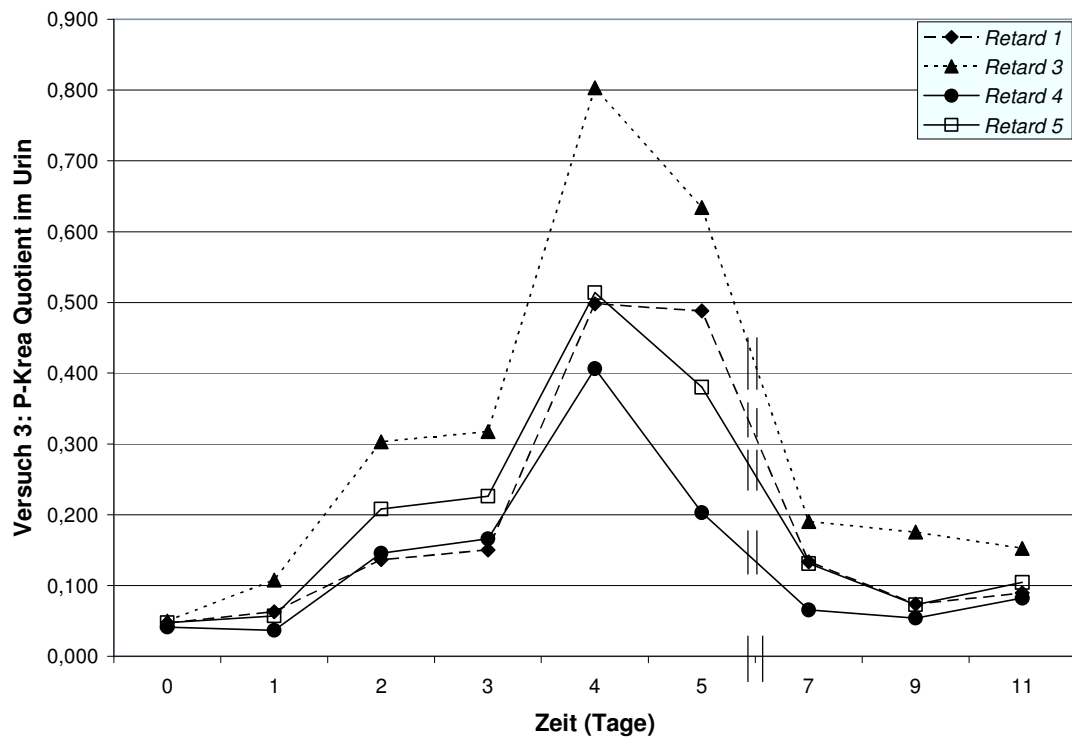


Abbildung 5.10: Versuch 3- Phosphor / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen

Signifikante Unterschiede zwischen den Präparationen, und im Vergleich zum synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sind sowohl in Versuch 2, als auch in Versuch 3 lediglich an einzelnen Tagen zu sehen. Der Anstieg der Phosphorausscheidung ist im Vergleich zur Ausscheidung des Calciums nicht so deutlich zu sehen.

Im Gegensatz zur Calciumausscheidung konnte im Versuch 2 die höchste Phosphorausscheidung nach Verabreichung der Retardform 2 gemessen werden. Bereits am Tag 5 des Versuches sinkt die Phosphorausscheidung bei der Gruppe Solbone und dem synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wieder auf den Ausgangswert. Im Gegensatz zur Calciumausscheidung über den Urin, die erst nach 15 Tagen wieder auf den Ausgangswert zurückfällt, sinken die Werte der Phosphorausscheidung bereits zwischen Tag 5 und Tag 7 wieder auf den Ausgangswert.

Auch im Kurvenverlauf der Phosphorausscheidung treten Schwankungen auf, die allerdings geringer sind, als bei der Calciumausscheidung. Diese könnten ebenfalls auf den circadianen Rhythmus der Phosphorausscheidung, der von SPIEKER (1989) festgestellt wurde, zurückzuführen sein. Wie schon bei der

Calciumausscheidung beschrieben, könnten diese Schwankungen aber auch auf einer technisch bedingten Messungenauigkeit basieren.

Normalerweise werden beim Rind, anders als beim Menschen und Fleischfresser, kaum mehr als 2 % der gesamten Phosphorexkretion über die Niere ausgeschieden (BOEHNCKE & TIEWS, 1972). Durch die Verabreichung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oder des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Glycosids wird vermehrt Phosphor im Darm resorbiert, diese vermehrte Aufnahme führt nach MURER et al. (2000) auch zu einer erhöhten Ausscheidung von Phosphor mit dem Urin.

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Kaliumausscheidung über den Urin

Die Werte der Kaliumausscheidung der Versuchstiere zeigen gegenüber den Werten der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied. Die Werte liegen alle innerhalb des von SPIEKER (1989) ermittelten Referenzbereichs, bei dem ein Kalium- Kreatinin Quotient von 30 nicht überschritten wird. Tägliche Schwankungen der Kaliumexkretion sind in allen Gruppen der drei Versuche zu sehen. Die Ausscheidung des Kaliums über die Nieren ist stark vom Kaliumangebot im Futter abhängig. Kalium wird zu etwa 80 % im Verdauungstrakt resorbiert (JEROCH et al., 2008). Und etwa 90- 95 % des mit der Nahrung aufgenommenen Kaliums wird mit dem Urin ausgeschieden (STANTON & KOEPPEN, 1998). Dadurch können die täglichen Schwankungen bei der Ausscheidung des Kaliums mit dem Urin in der vorliegenden Studie erklärt werden. Ein Einfluss des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die Kaliumexkretion ist aus der Literatur nicht bekannt.

Einfluss der verschiedenen *S. glaucophyllum* Präparationen auf die Natriumausscheidung über den Urin

Die Werte der Natriumausscheidung im Urin zeigen in allen Gruppen ähnliche Werte und Schwankungen. Signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe können nicht festgestellt werden. Natrium wird bis zu 80 % aus dem Futter resorbiert (JEROCH et al., 2008). Die Ausscheidung von Natrium über

die Nieren wird durch das Renin- Angiotensin- System und durch das Peptidhormon Atriopeptin reguliert. Ebenfalls eine Rolle bei der Regulation spielt das Anti-diuretische Hormon (ADH), das auch als Vasopressin bekannt ist. Die Natriumausscheidung hängt damit im Wesentlichen vom Wasserhaushalt des Körpers ab (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2007). BOENCKE (1981) konnte zudem einen deutlichen Anstieg der Natriumkonzentration im Urin zwischen 8 und 15 Uhr und eine nachfolgende Abnahme bis 21 Uhr feststellen und machte dafür den rhythmischen Anstieg der Aldosteronkonzentration verantwortlich. Ein Einfluss von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die Natriumausscheidung über die Nieren ist nicht bekannt.

5.2.3 Abschließende Beurteilung

Alle in dieser Studie eingesetzten Testsubstanzen bewirkten einen deutlichen Anstieg der Calcium- und Phosphorkonzentration im Serum. Im Gegensatz zum synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verursachten die Präparationen des *S. glaucophyllum* Extraktes einen plateauartigen Verlauf zwischen Tag 2 und Tag 7 des Versuches. Am Tag 11 erreichten alle Serumcalcium- und Serumphosphorwerte wieder das Ausgangsniveau.

Erstmals wurde eine gesteigerte Calcium- und Phosphorausscheidung über den Urin nach *S. glaucophyllum* Applikation beim Rind gemessen. Diese Calciumausscheidung über den Urin ist bei einzelnen *S. glaucophyllum* Präparationen geringer als unter dem Einfluss des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Damit erscheint die Gabe von *S. glaucophyllum* Präparationen in doppelter Hinsicht der Verabreichung des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ überlegen. Es bleibt die Frage, ob eine Wirkdauer von 11 Tagen ausreicht, um eine geeignete Prophylaxe an kalbenden Tieren zu gewährleisten. Dies sollte in weiteren Untersuchungen an hochträchtigen Tieren kurz vor der Geburt geprüft werden.

6 Zusammenfassung

Einsatz verschiedener Präparationen eines Extraktes von *Solanum glaucophyllum* zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes

Die hypocalcämische Gebärparese des Rindes stellt mit einer Inzidenz von 5 bis 10 % ein großes Problem in der Milchwirtschaft dar. Nicht zuletzt aufgrund der mit der Gebärparese häufig einhergehenden Folgeerkrankungen und der dadurch bedingten wirtschaftlichen Verluste sollte eine praktikable Gebärpareseprophylaxe angestrebt werden. Die Verabreichung von Vitamin D-Metaboliten ist eine wirksame Prophylaxemaßnahme, deren Erfolg aber auf ein enges Zeitfenster nach Applikation begrenzt ist.

Aus dieser Überlegung heraus wurden verschiedene Präparationen und Retardformen eines $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Glycosid haltigen *S. glaucophyllum* Extraktes an weiblichen Rindern nach einmaliger Applikation hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Wirkdauer überprüft. Zum Vergleich diente synthetisches $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Nach Applikation der Testsubstanzen mittels eines Boluseingebers wurde deren Effekt auf Calcium, Phosphor, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und weitere Parameter im Serum und erstmalig im Urin bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eindeutig eine Wirksamkeit sowohl des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, als auch der verabreichten *S. glaucophyllum* Präparationen. Alle verabreichten Testsubstanzen ließen sowohl den Calcium-, als auch den Phosphorspiegel im Serum ansteigen.

Bei der Bestimmung des Vitamin D Metaboliten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum konnte bereits am Tag 1 das Maximum gemessen werden. Obwohl der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Spiegel im Serum bereits am Tag 3 oder Tag 4 wieder auf den Ausgangswert zurückgefallen war, blieb der Calcium- und Phosphorspiegel für die Dauer von 11 Tagen erhöht. Die einmalige Verabreichung des reinen oder glycosidisch gebundenen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ der *S. glaucophyllum* Präparationen wirkte auf die Calciumhomöostase also ungefähr 10 Tage nach.

Der Calcium- und Phosphorspiegel im Serum zeigte nach Verabreichung der *S. glaucophyllum* Präparationen an den Tagen 2 bis 7 einen erhöhten, plateauartigen Verlauf. Nach Verabreichung des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ fielen sowohl der Calcium-, als auch der Phosphorspiegel in oben erwähntem Zeitraum bereits wieder ab.

Die Verabreichung der *S. glaucophyllum* Präparationen und des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ führte zu einer vermehrten Ausscheidung von Calcium und Phosphor über den Urin, wobei das synthetische $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die unerwünschte Calciumausscheidung über die Nieren erheblich höher ansteigen ließ, als die *S. glaucophyllum* Präparationen.

Damit erscheint die Gabe von *S. glaucophyllum* Präparationen in doppelter Hinsicht der Verabreichung des synthetischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ überlegen. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie könnte der Einsatz von *S. glaucophyllum* zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpause des Rindes eine interessante Alternative zu den bisher in der Praxis eingesetzten Verfahren sein. In weiteren Untersuchungen sollte der Einsatz der *S. glaucophyllum* Präparationen und Retardformen an kalbenden und laktierenden Kühen geprüft werden.

7 Summary

Application of different preparations of a *Solanum glaucophyllum* extract for the prevention of hypocalcemic paresis in cows

With an occurrence of 5 to 10 % in calving cows the periparturient hypocalcemia forms a major problem in dairy farming. Not at least as the associated disturbances in animal health cause great economic losses a practicable solution is required. The application of vitamin D metabolites is a potent measure, its success is restricted though to a certain, very short period of time for its application.

Thus the efficacy of a single application of different preparations and slow release forms of a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ containing *Solanum glaucophyllum* extract has been tested on female cows. Further, the time their effect is lasting has been monitored. They were compared to a synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. After the application of the tested substances, their effect on calcium, phosphorus, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and other parameters in blood serum and urine was controlled.

The results of this study show clearly the efficacy of all the applied *S. glaucophyllum* preparations as well as the synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. All applied substances made the calcium as well as the phosphorus levels in blood serum rise.

Maximum blood levels of the vitamin D metabolite $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ were monitored already on day 1. Although the $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ level in serum dropped back to its previous stage on day 3 or 4, the calcium und phosphorus levels remained elevated for 11 days. Thus the single application of the pure or the glycosidically bound $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ of the *S. glaucophyllum* preparations had a after-effect on the calcium homeostasis for about 10 days.

Calcium and phosphorus levels in blood serum remained high from day 2 to 7 after application of the *S. glaucophyllum*. preparations. After application of the synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ the calcium as well as the phosphorus levels already fell during this specific time.

The application of the *S. glaucophyllum* preparations and the synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ caused higher excretions of calcium and phosphorus through the urine, with the unrequested excretion being much higher using the synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Thus the application of *S. glaucophyllum*. seems to be in both ways more efficient than the synthetic $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. As result, the application of *S. glaucophyllum* could provide an interesting alternative to the methods used so far for the prevention of periparturient hypocalcemia in cows. In further studies the application of the *S. glaucophyllum* preparations and slow release forms should be tested on calving and lactating cows.

8 Literaturverzeichnis

Abu Damir H, Phillippo M, Thorp BH, Milne JS, Dick L, Nevison IM. Effects of dietary acidity on calcium balance and mobilisation, bone morphology and 1,25 dihydroxyvitamin D in prepartal dairy cows. *Res Vet Sci* 1994; 56: 310-8.

Allen WM, Davies DC. Milk fever, hypomagnesaemia and the 'downer cow' syndrome. *Br Vet J* 1981; 137: 435-41.

Baggot JD. Veterinary drug formulations for animal health care: an overview. *J Control Release* 1988; 8: 5-13.

Balsh CC, Campling RC (1965) *Physiology of digestion in the ruminant*. Butterworths, London

Bar A, Sachs M, Hurwitz S. Observations of the use of 1 alpha hydroxycholecalciferol in the prevention of bovine parturient paresis. *Vet Rec* 1980; 106: 529-32.

Barlet JP. Influence of alpha-hydroxycholecalciferol on plasma calcium and phosphate levels in cattle. *C R Acad Sci D Hebd Seances* 1975; 281: 1497-500.

Bikle DD, Gee E, Halloran B, Kowalski MA, Ryzen E, Haddad JG. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 954-9.

Block E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J Dairy Sci* 1984; 67: 2939-3948.

Block E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77: 1437-50.

Boehncke, Tiews. Renal excretion of phosphorus in cattle. *Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd* 1972; 29: 34.

Boehncke E. Studies of creatinine excretion in fattened calves and endogenous creatinine clearance in young bulls. *Zentralbl Veterinärmed A* 1980; 27: 421-8.

Boehncke E. Zur Diagnostik der Natriumversorgungslage von Milchkühen. *Prakt Tierarzt* 1981; 62: 954-60.

Boettner WA, Aguiar AJ, Cardinal JR, Curtiss AC, Ranade GR, Richards JA, Sokel WA. The morantel sustained release trilaminate: a device for the controlled delivery of morantel to cattle. *J of Control Release* 1988; 8: 23-30.

Borsberry S, Dobson H. Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Vet Rec* 1989; 124: 217-9.

Bostedt H. Blood serum studies in cattle lying down in the early puerperal period. 1. Studies on serum calcium, anorganic phosphorus, and magnesium levels in lying down cattle. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 1973; 86: 344-9.

Bostedt H, Wendt V, Prinzen R. Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. *Prakt. Tierarzt* 1979; 60: 18-34.

Bostedt H. Stoffwechselerkrankungen in der frühen puerperalen Phase. In: *Tiergeburtshilfe*, 4. Auflage edn. Richter J, Götze R, eds.: Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg 1993: 431-8.

Bouillon R, Van Cromphaut S, Carmeliet G. Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms. *J Cell Biochem* 2003; 88: 332-9.

Braun U, Salis F, Gerspach C, Feige K, Sydler T. Pharyngeal perforation in three cows caused by administration of a calcium bolus. *Vet Rec* 2004; 154: 240-2.

Braun U, Zulliger P, Liesegang A, Bleul U, Hassig M. Effect of intravenous calcium borogluconate and sodium phosphate in cows with parturient paresis. *Vet Rec* 2009; 164: 296-9.

Bronner F, Pansu D, Stein WD. An analysis of intestinal calcium transport across the rat intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1986; 250: G561-9.

Bronner F. Mechanisms of intestinal calcium absorption. *J Cell Biochem* 2003; 88: 387-93.

Buchelt, K.D. (1986) Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärlähmung mittels Verfütterung von *Trisetum-flavescens*-Cobs. In: Diss. med. vet. Tierärztl. Fak. München

Capen CC, Hoffsis GF, Norman AW. Dose-response of 1,25-Dihydroxycholecalciferol on serum calcium and phosphorus, urine electrolytes and hydroxyproline excretion in dairy cattle. In: Vitamin D: Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. Norman AW, Schaefer K, Coburn JW, DeLuca HF, Fraser DR, Grigoleit HG, Herrath D, eds.: Walter de Gruyter Verlag 1977: 565-7.

Cardinal JR. Intraruminal controlled release boluses. In: Controlled release veterinary drug delivery: Biological and pharmaceutical considerations. Rathbone M, Gurny R, eds.: Elsevier Science Publishers 2000: 51-82.

Carstairs JA, Treutelaar NA, Jorgensen NA, DeLuca HF. Potential use of a combination of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 1 α -Hydroxyvitamin D₃ as a milk fever preventive. *J Dairy Sci* 1981; 64, Supplement 1 Abstract: 156.

Chamberlain AT, Wilkinson JM. Feeding the dairy cow. Chalcombe Publications, Lincoln, UK 2002;

Christakos S, Gill R, Lee S, Li H. Molecular aspects of the calbindins. *J Nutr* 1992; 122: 678-82.

Christakos S, Barletta F, Huening M, Dhawan P, Liu Y, Porta A, Peng X. Vitamin D target proteins: function and regulation. *J Cell Biochem* 2003; 88: 238-44.

Conrad JM, Skinner DS. Controlled sustained delivery of monensin in cattle: the Monensin R.D.D. J Control Release 1988; 9: 133-47.

Correa MT, Erb H, Scarlett J. Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. J Dairy Sci 1993; 76: 1305-12.

Craviso GL, Garrett KP, Clemens TL. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces the synthesis of vitamin D-dependent calcium-binding protein in cultured chick kidney cells. Endocrinology 1987; 120: 894-902.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, White ME, Hillman RB, Pearson EJ. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. J Am Vet Med Assoc 1983; 183: 559-61.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD. Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management. J Dairy Sci 1984; 67: 817-25.

Davies DC, Allen WM, Hoare MN, Pott JM, Riley CJ, Sansom BF, Stenton JR, Vagg MJ. A field trial of 1alpha-hydroxycholecalciferol (1alpha-OH D₃) in the prevention of milk fever. Vet Rec 1978; 102: 440-2.

DeGaris PJ, Lean IJ. Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology and control principles. Vet J 2008; 176: 58-69.

Deitner J, Baumgartner C. Calciummangel nach dem Kalben. Festliegen - Was tun ? Milchpur 2006; 3: 8-11.

DeLuca HF. Vitamin D: the vitamin and the hormone. Fed Proc 1974; 33: 2211-9.

DeLuca HF. The vitamin D system: a view from basic science to the clinic. Clin Biochem 1981; 14: 213-22.

DeLuca HF. Vitamin D and the parenteral nutrition patient. *Gastroenterology* 2009; 137: 79-91.

Dirksen G, Plank P, Spiess A, Hanichen T, Dammrich K. Enzootic calcosinosis in cattle. I. Clinical findings and studies. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1970; 77: 321-37

Dirksen G, Plank P, Hanichen T, Dammrich K, Spiess A. An enzootic calcosinosis in cattle. 4. Studies in sheep with selective feeding of clover, gramineae or herbs. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1971; 78: 9-12.

Dirksen G, Plank P, Simon U, Hanichen T, Daniel P, Spiess A. Enzootic calcosinosis in cattle. VII. Demonstration of calcosinogenic activity of *Trisetum flavescens* in ruminants. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1974; 81: 1-5.

Dirksen G, Kaufmann W. Untersuchungen über die Pansenmotorik der Milchkuh im Zeitraum um die Kalbung. *Fortschritte der Veterinärmedizin. Ber. 12. Kongr. DVG Bad Nauheim* 1978; 28: 144-52.

Dirksen G, Kragenings G, Hanichen T, Elmer-Engelhard D. *Trisetum flavescens* (L., P.B.): calcosinogenic activity of the plant after artificial (green)- drying and preparation of cobs. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1981; 88: 263-5.

Dirksen G. Enzootische Kalzinose. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, 4. Auflage edn. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, eds.: Parey Buchverlag, Berlin 2002a: 1020-4.

Dirksen G. Festliegen. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, 4. Auflage edn. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, eds.: Parey Verlag, Berlin 2002b: 863-71.

Drake CF (1982) Controlled release glass., US Patent 4,350,675

Edwards SR, Graham CAA, Shepard MT (1989) Heavy metal depot., US, Patent 4,867,980

Ender F, Dishington IW, Helgebostad A. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. *Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd* 1971; 28: 233-56.

Erb HN, Smith RD, Oltenacu PA, Guard CL, Hillman RB, Powers PA, Smith MC, White ME. Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1985; 68: 3337-49.

Esparza MS, Vega M, Boland RL. Synthesis and composition of vitamin D-3 metabolites in *Solanum malacoxylon*. *Biochim Biophys Acta* 1982; 719: 633-40.

Esvelt RP, Schnoes HK, DeLuca HF. Vitamin D3 from rat skins irradiated in vitro with ultraviolet light. *Arch Biochem Biophys* 1978; 188: 282-6.

Fraser DR. Vitamin D. *Lancet* 1995; 345: 104-7.

Fricke, R. (1985) Untersuchungen über die Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärlähmung beim Rind mit *Solanum malacoxylon*. In: Diss. med. vet., Tierärztl. Fak., München

Fürll M (1981) Vorkommen, Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und medikamentelle Beeinflussung von Leberschäden beim Rind. Sektion Tierprod. und Veterinärmed., Habil.-Schr. Univ. Leipzig

Fürll M, Oetzel GR. The influences of different CaCl₂ preparations on the acid base state as well as the mineral metabolism in cows. *Acta Vet Scand Suppl* 2003; 97: 157-8.

Gast DR, Horst RL, Jorgensen NA, DeLuca HF. Potential use of 1,25-Dihydroxycholecalciferol for prevention of parturient paresis. *J Dairy Sci* 1979; 62: 1009-13.

Gaynor PJ, Mueller FJ, Miller JK, Ramsey N, Goff JP, Horst RL. Parturient hypocalcemia in jersey cows fed Alfalfa Haylage-based diets with different cation to anion ratios. *J Dairy Sci* 1989; 72: 2525-31.

Goff JP, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Use of 24-F-1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ to prevent parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 1988; 71: 1211-9.

Goff JP, Horst RL. Effect of subcutaneously released 24F-1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on incidence of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 1990; 73: 406-12.

Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL. Enzymes and factors controlling Vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. *J Dairy Sci* 1991a; 74: 4022-32.

Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, Miller JK, Kiess GA, Dowlen HH. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-Dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *J Dairy Sci* 1991b; 74: 3863-71.

Goff JP, Horst RL. Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *J Dairy Sci* 1993; 76: 101-8.

Goff JP, Horst RL. Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. *J Dairy Sci* 1994; 77: 1451-6.

Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of Vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1995; 78: 2388-94.

Goff JP, Horst RL. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever dairy cows. *J Dairy Sci* 1997a; 80: 176-86.

Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997b; 80: 1260-8.

Goff JP (1999) Physiological factors to consider in order to prevent periparturient disease in the dairy cow with special emphasis on milk fever. In: Western Dairy Management Conference, Las Vegas, Nevada

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16: 319-37.

Goff JP (2002) Downer cows- causes, treatment and prevention. The role of cation-anion balance. In: 2. Leipziger Tierärztekongress, Leipzig. 268-77

Goff JP. Managing the transition cow-considerations for optimising energy and protein balance and immune function. *Cattle Pract.* 2003; 11(2): 51-63.

Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2004; 20: 471-94.

Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J* 2008; 176: 50-7.

Goings RL, Jacobson NL, Beitz DC, Littledike ET, Wiggers KD. Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet. *J Dairy Sci* 1974; 57: 1184-8.

Grabherr H, Spolders M, Flachowsky G, Furl M. Influence of zeolite A supplementation during the dry period of dairy cows on feed intake, on the macro and trace element metabolism around calving and milk yield in the following lactation. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2008; 121: 41-52.

Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. *J Dairy Sci* 1981; 64: 217-26.

Hänichen T, Plank P, Dirksen G. Enzootic calcinosis in cattle. II. Histomorphological studies of soft tissues. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 1970; 77: 338-42.

Harris DJ. Factors predisposing to parturient paresis. *Aust Vet J* 1981; 57: 357-61.

Haussler MR, Wasserman RH, McCain TA, Peterlik M, Bursac KM, Hughes MR. 1, 25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside: identification of a calcinogenic principle of *Solanum malocoxylon*. *Life Sci* 1976; 18: 1049-56.

Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 1999; 82: 295-304.

Hierholzer K, Fromm M. Physiologie der Niere - Wasser- und Elektrolythaushalt. In: *Lehrbuch der Veterinärphysiologie*. Scheumert A, Trautmann A, eds.: Paul Parey-Verlag 1987

Hodnett DW, Jorgensen NA, Deluca HF. 1 alpha-hydroxyvitamin D₃ plus 25-hydroxyvitamin D₃ reduces parturient paresis in dairy cows fed high dietary calcium. *J Dairy Sci* 1992; 75: 485-91.

Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van de Graaf SF, van Os CH, Willems PH, Bindels RJ. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J Biol Chem* 1999; 274: 8375-8.

Hoffsis GF, Capen CC, Norman AW. The use of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the prevention of parturient hypocalcaemia in dairy cows. *Bovine Pract.* 1978; 13: 88.

Hofmann W. Hypokalzämische Gebärparese. In: *Rinderkrankheiten*, 1.Auflage edn. Loeffler K, Strauch D, eds.: Ulmer Verlag, Stuttgart 1992: 290-6.

Hofmann W. Klinische Labordiagnostik. In: *Rinderkrankheiten- Innere und chirurgische Erkrankungen*, 2. Auflage edn. Hofmann W, ed.: Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart 2005

Holick MF, Tian XQ, Allen M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 3124-6.

Horner S, Dallmayer M, Staufenbiel R, Gelfert CC. Shifting in clinical signs of bovine parturient paresis with special respect of hypophosphataemia. XXII World Biutrics Congress, Hannover, Germany ; 18-23 August 2002: Abstract : 24-818.

Horst RL, Littledike ET. Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals. *Comp Biochem Physiol B* 1982; 73: 485-9.

Horst RL. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. *J Dairy Sci* 1986; 69: 604-16.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci* 1994; 77: 1936-51.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1269-80.

Horst RL, Goff JP, Gill S, Dallorso ME, Pawlak E. Using *Solanum glaucophyllum* as a source of 1,25-dihydroxyvitamin D to prevent hypocalcaemia in dairy cows. *Acta vet scand Suppl.* 2003; 98

Houe H, Ostergaard S, Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Larsen T, Sorensen JT, Agger JF, Blom JY. Milk fever and subclinical hypocalcaemia--an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet Scand* 2001; 42: 1-29.

Hove K, Kristiansen T. Prevention of parturient hypocalcemia: Effect of a single oral dose of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *J Dairy Sci* 1982; 65: 1934-40.

Hove K, Horst RL, Littledike ET. Effects of 1 alpha-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. *J Dairy Sci* 1983; 66: 59-66.

Jeroch H, Drochner W, Simon O. Mineralstoffe. In: Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 2. Auflage edn. Jeroch H, Drochner W, Simon O, eds.: Ulmer-Verlag, Stuttgart 2008:

Jonsson G, Pehrson B. Trials with prophylactic treatment of parturient paresis. Vet Rec 1970; 87: 575-8.

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

Jonsson NN, Pepper PM, Daniel RCW, McGowan MR, Fulkerson W. Association between non-parturient post-partum hypocalcaemia and the interval from calving to first ovulation in Holstein-Friesian dairy cows. Anim Sci 1999; 68: 377-83.

Jorgensen NA, Horst RL, DeLuca HF, Ogilvie ML. 25-hydroxycholecalciferol for prevention of "milk fever" in dairy cows. Vet Rec 1978; 103: 136-8.

Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Arsenos G, Christaki E, Karatzias H. Effects of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on incidence of parturient paresis and serum concentrations of total calcium, phosphate, magnesium, potassium, and sodium in dairy cows. Am J Vet Res 2005; 66: 2081-5.

Kistler A, Galli B, Horst R, Truitt GA, Uskokovic MR. Effects of vitamin D derivatives on soft tissue calcification in neonatal and calcium mobilization in adult rats. Arch Toxicol 1989; 63: 394-400.

Kraft D, Herrath D, Schaefer K, Wagner H, Ott E. The effect of different solanum malacoxylon extracts on urinary calcium excretion in vitamin D deficient rats. In: Vitamin D: Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. Norman AW, Schaefer K, Coburn JW, DeLuca HF, Fraser DR, Grigoleit HG, Herrath D, eds.: Walter de Gruyter, Verlag 1977: 442.

Kraft W, Dürr U (2005) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin., 6. Auflage edn. Schattauer Verlag, Stuttgart

Kümper H. Aspirationspneumonie und andere Komplikationen infolge oraler Applikation von Kalziumchloridgel bei der Milchkuh. *Prakt. Tierarzt* 1992; 73: Coll Vet XXIII, 1-23.

Kunz W. Influence of Solanum malacoxylon (Sendtner) on serum calcium, phosphorus and magnesium levels in cattle after parenteral and oral application. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 1977; 90: 69-72.

Kunz W., Hänichen T. Solanum malacoxylon : studies of tolerance of doses recommended for the prophylaxis of parturient paresis. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 1981; 94(21): 421-4.

Kutchai HC. The gastrointestinal system. In: *Physiology*, 4. Auflage edn. Berne RM, Levy MN, eds.: Mosby-Verlag 1998:

Laby RH (1974) Device for administration to ruminants, US, Patent 3,844,285

Ladizesky M, Cabrejas C, Labarrere C, Mautalen C. Solanum malacoxylon and vitamin D: comparison of its antirachitic activity and its effect on the intestinal absorption on kalzium in the rat. *Endocrin Acta Panam* 1974; 5: 71-9.

Levine BS, Singer FR, Bryce GF, Mallon JP, Miller ON, Coburn JW. Pharmacokinetics and biologic effects of calcitriol in normal humans. *J Lab Clin Med* 1985; 105: 239-46.

Liesegang A, Singer K, Boos A. Vitamin D receptor amounts across different segments of the gastrointestinal tract in Brown Swiss and Holstein Frisean cows of different age. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2008; 92: 316-23.

Littledike ET, Engstrom GW, Sachs M. Sequential sampling and analysis of renal hydroxylase activities of cattle given 1 alpha-hydroxyvitamin D3. *J Dairy Sci* 1986; 69: 990-7.

Löffler G, Bringelius-Flohe´ R. Vitamine. In: *Biochemie und Pathobiochemie*, 8.Auflage edn. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC, eds.: Springer-Verlag, Berlin 2007: 679-714.

Luczak S, Steffl M, Amselgruber WM. The influence of milk yield on the incidence of some diseases in high yielding dairy cows. *Tierärztl Prax.* 2009; 37(G): 221-8.

MacLaughlin JA, Anderson RR, Holick MF. Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin. *Science* 1982; 216: 1001-3.

Manston R, Mallinson CB, Vagg MJ, Sansom BF. Study of combined injections of 1 alpha-hydroxy-cholecalciferol and cloprostenol in the prevention of parturient paresis. *Vet Rec* 1981; 109: 357-8.

Martig J. Hypokalzämische Gebärlähmung. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, 4. Auflage edn. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, eds.: Paul-Parey Verlag, Berlin 2002: 1245-54.

Massey CD, Wang C, Donovan GA, Beede DK. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 852-3.

McMurray CH, Rice DA, McBride PS. Milk fever controls: comparison of 1-alpha and vitamin D3 in conjunction with induced parturition. *Vet Rec* 1980; 107: 188-91.

McMurray CH, Desmond AR, Gordon F, Humphreys DJ (1983) The potential use of *Solanum Malacoxylon* in the prevention of parturient paresis in dairy cows. In: Abstracts of fifth International Conference on production disease in farm animals, Uppsala, Schweden. 22-5

Mello JR. Calcinosis--calcinogenic plants. *Toxicon* 2003; 41: 1-12.

Metzner M, Klee W (2003) Bedeutung klinischer Beobachtungen und blutanalytischer Befunde bei festliegenden Kühen. Alternative Verfahren zum Aufstellen der Tiere. In: 21. Bayerischer Tierärzttetag, München. 62-3

Minghetti PP, Cancela L, Fujisawa Y, Theofan G, Norman AW. Molecular structure of the chicken vitamin D-induced calbindin-D28K gene reveals eleven exons, six Ca²⁺-binding domains, and numerous promoter regulatory elements. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 355-67.

Moore SJ, VandeHaar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bucholtz HF, Liesman JS, Horst RL, Goff JP. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *J Dairy Sci* 2000; 83: 2095-104.

Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80: 1373-409.

Naito Y, Goff JP, Horst RL, Reinhardt TA. Effects of continuous administration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on plasma minerals and unoccupied colon mucosal 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor concentrations. *J Dairy Sci* 1989; 72: 2936-41.

Nellans HN. Contributions of cellular and paracellular pathways to transepithelial intestinal calcium transport. *Prog Clin Biol Res* 1988; 252: 269-76.

Nellans HN. Intestinal calcium absorption. Interplay of paracellular and cellular pathways. *Miner Electrolyte Metab* 1990; 16: 101-8.

Nemere I, Norman AW. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-mediated vesicular transport of calcium in intestine: time-course studies. *Endocrinology* 1988; 122: 2962-9.

Norman AW, Nemere I, Zhou LX, Bishop JE, Lowe KE, Maiyar AC, Collins ED, Taoka T, Sergeev I, Farach-Carson MC. 1,25(OH)₂-vitamin D₃, a steroid hormone that produces biologic effects via both genomic and nongenomic pathways. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41: 231-40.

Oberheide I, Wilkens M, Azem E, Schröder B, Breves G. Influence of supplementation of 25-hydroxyvitamin D₃ combined with an acidifying diet in the calcium metabolism in periparturient dairy cows. *Proc Soc Nutr Physiol* 2010; 19

Oetzel GR. Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1988; 4: 351-64.

Oetzel GR. Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of periparturient diseases. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 958-61.

Oetzel GR. Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16: 369-86.

Okada KA, Carrillo BJ, Tilley M. *Solanum malacoxylon* Sendtner : A toxic plant in Argentina. *Economic Botany* 1977; 31: 225-36.

Olson WG, Jorgensen NA, Schultz LH, Deluca HF. 25-Hydroxycholecalciferol (25-OHD3) II. Efficacy of parenteral administration in prevention of parturient paresis. *J Dairy Sci* 1973; 56: 889-95.

Ostergaard S, Grohn YT. Effects of diseases on test day milk yield and body weight of dairy cows from Danish research herds. *J Dairy Sci* 1999; 82: 1188-201.

Pallesen A, Pallesen F, Jorgensen RJ, Thilising T. Effect of pre-calving zeolite, magnesium and phosphorus supplementation on periparturient serum mineral concentrations. *Vet J* 2008; 175: 234-9.

Pansu D, Bellaton C, Bronner F. Developmental changes in the mechanisms of duodenal calcium transport in the rat. *Am J Physiol* 1983; 244: G20-6.

Pansu D, Duflos C, Bellaton C, Bronner F. Solubility and intestinal transit time limit calcium absorption in rats. *J Nutr* 1993; 123: 1396-404.

Pehrson B, Svensson C, Gruvaeus I, Virkki M. The influence of acidic diets on the acid-base balance of dry cows and the effect of fertilization on the mineral content of grass. *J Dairy Sci* 1999; 82: 1310-6.

Peterlik M, Bursac K, Haussler MR, Hughes MR, Wasserman RH. Further evidence for the 1,25-dihydroxyvitamin D-like activity of *Solanum malacoxylon*. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 70: 797-804.

Pfitzer EA, Sadek SE, Dairman W. Six month studies in rats and dogs with calcitriol. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978; 45: 241-2.

Pike JW. Monoclonal antibodies to chick intestinal receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. Interaction and effects of binding on receptor function. *J Biol Chem* 1984; 259: 1167-73.

Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Parturient paresis and downer cow syndrome. In: *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.*, 9th edn: W.B. Saunders, London 2000: 1421-40.

Rambeck WA, Zucker H. Vitamin D₃ and vitamin D₃ metabolite-like activity in *Trisetum flavescens*. *Zentralbl Veterinärmed A* 1981; 28: 436-41.

Rambeck WA, Zucker H. Vitamin D₃ und 1,25-Dihydroxycholecalciferol in der kalzinogenen Pflanze *Trisetum flavescens* (Goldhafer). *Tierärztl. Umschau* 1985; 11: 921-4.

Rambeck WA, Zucker H. Vitamin- D- Metabolite als Ursache der durch Goldhafer ausgelösten Rinder- Kalzinose. *Übers Tierern* 1986; 14: 179-98.

Rambeck WA, Weiser H, Zucker H. A vitamin D₃ steroid hormone in the calcinogenic grass *Trisetum flavescens*. *Z Naturforsch* 1987; 42: 430-4.

Rambeck WA. Vitamin D. In: *Vitamine : Physiologie, Pathophysiologie, Therapie.* Biesalski H.K., Schrezenmeir J., Weber P., H. W, eds.: Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1997: 34-40.

Ramberg CF, Jr., Johnson EK, Fargo RD, Kronfeld DS. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *Am J Physiol* 1984; 246: R698-704.

Reichel H, Norman AW. Systemic effects of vitamin D. *Annu Rev Med* 1989; 40: 71-8.

Risco CA, Reynolds JP, Hird D. Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 185: 1517-9.

Rizova E, Corroller M. Topical calcitriol--studies on local tolerance and systemic safety. *Br J Dermatol* 2001; 144 Suppl 58: 3-10.

Roche JR, Dalley D, Moate P, Grainger C, Hannah M, O'Mara F, Rath M. Variations in dietary cation-anion difference and the acid-base balance of dairy cows on a pasture-based diet in South-eastern Australia. *Grass Forage Sci.* 2002; 55: 26-36.

Roux R., Davicco J.M., Carillo B.J., Barlet J.P. *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* 1979; 19(1A): 91-101.

Sachs M, Bar A, Cohen R, Mazur Y, Mayer E, Hurwitz S. Use of 1alpha-hydroxycholelcalciferol in the prevention of bovine parturient paresis. *Am J Vet Res* 1977; 38: 2039-41.

Sachs M, Perlman R, Bar A. Use of 1 alpha-hydroxyvitamin D3 in the prevention of bovine parturient paresis. IX. Early and late effects of a single injection. *J Dairy Sci* 1987; 70: 1671-5.

Sambras HH (2001) *Atlas der Nutztierassen*, 6. Auflage edn. Ulmer- Verlag Stuttgart

Schlötterer-Wieser, S. (2008) Untersuchungen zum Einsatz eines Vitamin D-haltigen Pflanzenprodukts von *Solanum glaucophyllum* zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes. In: Diss. med. vet. Tierärztl. Fak., München

Schültken A, Moll G. Effizienz einer oralen Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese mit der Kalziumchlorid-Öl-Emulsion Calol in der Praxis. *Prakt Tierarzt* 1998; 79(2): 150-61.

Schwartz GG, Whitlatch LW, Chen TC, Lokeshwar BL, Holick MF. Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from 25-hydroxyvitamin D₃. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 391-5.

Schweigert F. Vitamine. In: *Physiologie der Haustiere*, 2.Auflage edn. Engelhardt W, Breves G, eds.: Enke Verlag 2005: 614-24.

Silbernagl S, Despopoulos A (2007) *Taschenatlas der Physiologie*, 7.Auflage edn. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York

Simon U (1980) Golden oat grass and enzootic calcinosis of cattle in the alpine region. In: *Europ Grass Fed.* 7113-24

Skliar MI, Boland RL, Mourino A, Tojo G. Isolation and identification of vitamin D₃, 25-hydroxyvitamin D₃, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 1,24,25-trihydroxyvitamin D₃ in *Solanum malacoxylon* incubated with ruminal fluid. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 43: 677-82.

Slepchenko BM, Bronner F. Modeling of transcellular Ca transport in rat duodenum points to coexistence of two mechanisms of apical entry. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281: C270-81.

Spieker R. The effect of the time of day on the renal excretion of several minerals in cattle. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 1989; 102: 52-6.

Spiekers H, Nußbaum H, Potthast V (2009) *Erfolgreiche Milchviehfütterung*, 5. Auflage edn. DLG-Verlag

Stanton BA, Koeppen BM. The kidney. In: *Physiology*, 4. Auflage edn. Berne RM, Levy MN, eds.: Mosby-Verlag 1998:

Stöber M. Störungen des Mineralstoffwechsels. In: *Krankheiten des Rindes*, 3.Auflage edn: Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg 1993: 985-1050.

Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Ostergaard S. Milk fever control principles: a review. *Acta Vet Scand* 2002a; 43: 1-19.

Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. The effect of Zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci* 2002b; 85: 1855-62.

Tokarnia CH, Dobereiner J, Peixoto PV. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon* 2002; 40: 1635-60.

Uribe HA, Kennedy BW, Martin SW, Kelton DF. Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci* 1995; 78: 421-30.

Vagg MJ, Allen WM, Davies DC, Sansom BF, Edwards HJ, Pott JM, Riley CJ. Field trial to determine the efficacy of two doses of 1 alpha-hydroxycholecalciferol in the prevention of milk fever. *Vet Rec* 1981; 109: 273-5.

Wasserman RH. Calcium absorption and calcium-binding protein synthesis: solanum malacoxylon reverses strontium inhibition. *Science* 1974; 183: 1092-4.

Wasserman RH, Corradino RA, Krook L, Hughes MR, Haussler MR. Studies on the 1alpha, 25-dihydroxycholecalciferol-like activity in a calcinogenic plant. *Cestrum diurnum*, in the chick. *J Nutr* 1976; 106: 457-65.

Wasserman RH. Intestinal calcium absorption. Academic Press 1997;

Wermuth NC (1990) New Treatment of milk fever. In: Proc. XVI. World Buiatr. Cong., Salvador Bahia Brazil. SOGEPACO, Bologna, Italy

Wittwer FG, Ford EJ. 1alpha hydroxycholecalciferol in the prevention of milk fever. *Vet Rec* 1978; 102: 442-4.

Worker NA, Carrillo BJ. "Enteque seco", calcification and wasting in grazing animals in the Argentine. *Nature* 1967; 215: 72-4.

Yamagishi N, Ayukawa Y, Lee I, Oboshi K, Naito Y. Calcium metabolism in cows receiving an intramuscular injection of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ combined with prostaglandin F(2 α) closely before parturition. J Vet Sci 2005; 6: 165-7.

Yamagishi N, Namioka T, Okura N, Sato S, Kim D, Furuhami K, Naito Y. Application of a reservoir-type calcitriol transdermal patch in dairy cattle. J Vet Med Sci 2009; 71: 845-8.

Zepperitz H. Untersuchungen zur klinischen und klinisch-chemischen Diagnostik der Gebärpause. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 1990; 45: 859-64.

Zimmerman GL, Hoberg EP. Controlled release devices for the delivery of anthelmintics in cattle. Parasitol Today 1988; 4: 55-6.

Zucker H, Stark H, Rambeck WA. Light-dependent synthesis of cholecalciferol in a green plant. Nature 1980; 283: 68-9.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: <i>Solanum glaucophyllum</i>	26
Abbildung 5.1: <i>Versuch 2</i> - Calciummittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH) ₂ D ₃ , Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen	90
Abbildung 5.2: <i>Versuch 3</i> - Calciummittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen	91
Abbildung 5.3: <i>Versuch 2</i> - Phosphormittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH) ₂ D ₃ , Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen	93
Abbildung 5.4: <i>Versuch 3</i> - Phosphormittelwerte im Serum in mmol/l der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen	94
Abbildung 5.5: <i>Versuch 2</i> - 1,25(OH) ₂ D ₃ - Mittelwerte (gepoolt) im Serum in pg/ml der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH) ₂ D ₃ , Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrolle während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen	96
Abbildung 5.6: <i>Versuch 3</i> - 1,25(OH) ₂ D ₃ -Werte im Serum (gepoolt) in pg/ml der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen.....	97
Abbildung 5.7: <i>Versuch 2</i> - Calcium / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH) ₂ D ₃ , Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrollgruppe während eines Versuchszeitraums von 15 Tagen	99
Abbildung 5.8: <i>Versuch 3</i> - Calcium / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen.....	102

Abbildung 5.9: *Versuch 2* - Phosphor / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 2, Solbone (nicht retardierte Form), 1,25(OH)₂D₃, Kombination (Kombination aus Solbone und Retardform 2) und der Kontrollgruppe während eines Versuchszeitraums von 15 Tagen 103

Abbildung 5.10: *Versuch 3*- Phosphor / Kreatinin Quotienten Mittelwerte im Urin der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4 und Retard 5 während eines Versuchszeitraums von 11 Tagen..... 104

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Übersicht über einige Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese mittels $1\alpha(\text{OH})_2\text{D}_3$	19
Tabelle 2.2: Übersicht über einige Versuche zur Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese des Rindes mittels $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	24
Tabelle 2.3: Vorkommen von Kalzinosen (nach Greissinger, 2004).....	28
Tabelle 3.1: Rasse, Geburtsdatum und Reproduktionsstatus der Tiere.....	36
Tabelle 3.2: Testsubstanz und deren Abkürzung	38
Tabelle 3.3: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in μg pro Tier aus <i>Versuch 1</i>	40
Tabelle 3.4: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in μg pro Tier aus <i>Versuch 2</i>	40
Tabelle 3.5: Rasse, Reproduktionsstatus, verabreichte Substanz und Gewicht (in kg zu Versuchsbeginn) der Tiere und die mit den Testsubstanzen verabreichte Menge des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in μg pro Tier aus <i>Versuch 3</i>	41
Tabelle 4.1: <i>Versuch 1</i> - Calcium-, Phosphorwerte im Serum in mmol/l ($\text{MW} \pm \text{SA}$) und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - Werte im Serum in pg/ml an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1 (n=3)	53
Tabelle 4.2: <i>Versuch 1</i> - Magnesium-, Kalium- und Natriumwerte im Serum in mmol/l ($\text{MW} \pm \text{SA}$) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1 (n=3).....	54
Tabelle 4.3: <i>Versuch 1</i> – Calcium–Kreatinin- und Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin ($\text{MW} \pm \text{SA}$) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1	56
Tabelle 4.4: <i>Versuch 1</i> – Kalium-Kreatinin- und Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin ($\text{MW} \pm \text{SA}$) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Retardform 1	57
Tabelle 4.5: <i>Versuch 2</i> – Calciumwerte im Serum in mmol/l ($\text{MW} \pm \text{SA}$) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und der Kombination (jeweils n=5)	59

Tabelle 4.6: <i>Versuch 2</i> – Phosphorwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination (jeweils n=5)	60
Tabelle 4.7: <i>Versuch 2</i> – 1,25(OH) ₂ D ₃ -Werte im Serum in pg/ml (MW, gepoolt) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination (jeweils n=5)	61
Tabelle 4.8: <i>Versuch 2</i> – Magnesiumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination (jeweils n=5)	62
Tabelle 4.9: <i>Versuch 2</i> – Kaliumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination (jeweils n=5)	63
Tabelle 4.10: <i>Versuch 2</i> – Natriumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination (jeweils n=5)	64
Tabelle 4.11: <i>Versuch 2</i> – Calcium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination	66
Tabelle 4.12: <i>Versuch 2</i> – Phosphor-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination	68
Tabelle 4.13: <i>Versuch 2</i> – Kalium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination	69
Tabelle 4.14: <i>Versuch 2</i> – Natrium-Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15 der Kontrollgruppe sowie der Testgruppen Retard 2, Solbone, 1,25(OH) ₂ D ₃ und der Kombination	71
Tabelle 4.15: <i>Versuch 3</i> – Calciumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5).....	72
Tabelle 4.16: <i>Versuch 3</i> – Phosphorwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5).....	73

Tabelle 4.17: <i>Versuch 3</i> – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte im Serum in pg/ml (MW, gepoolt) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	74
Tabelle 4.18: <i>Versuch 3</i> –Magnesiumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	75
Tabelle 4.19: <i>Versuch 3</i> –Kaliumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	76
Tabelle 4.20: <i>Versuch 3</i> – Natriumwerte im Serum in mmol/l (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5).....	77
Tabelle 4.21: <i>Versuch 3</i> – Calcium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	78
Tabelle 4.22: <i>Versuch 3</i> – Phosphor - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	79
Tabelle 4.23: <i>Versuch 3</i> – Kalium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	80
Tabelle 4.24: <i>Versuch 3</i> – Natrium - Kreatinin Quotienten im Urin (MW \pm SA) an den Tagen 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 der Testgruppen Retard 1, Retard 3, Retard 4, Retard 5 (jeweils n=5)	81
Tabelle 4.25: Nährstoffgehalte im Futter nach Weenderanalyse	81
Tabelle 4.26: Gehalt an Calcium (Ca), Phosphor (P), Kalium (K), Natrium (Na) und Magnesium (Mg) im Futter.....	82

11 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. E. Kienzle für die Überlassung des Themas sowie die Unterstützung während Planung und Durchführung dieser Arbeit herzlich bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. W. A. Rambeck möchte ich mich recht herzlich für seine Geduld bei allen auftretenden Fragen, für die kompetente, nette Betreuung, für die schnelle Korrektur und für seine ständige Erreichbarkeit bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. Julia Fritz, die das Gelingen dieser Arbeit durch ihre wertvollen Anregungen, ihre jederzeit gewährte Unterstützung und ihr Engagement ermöglichte.

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. M. Förster und Herrn PD Dr. A. Scholz vom Lehr- und Versuchsgut in Oberschleißheim möchte ich mich recht herzlich für die Bereitstellung der Rinder für den Versuch bedanken. Insbesondere gilt mein Dank Herrn Böser, Herrn Dr. Nüske, Frau Dr. Kremer und allen Mitarbeitern, die mir beim Wiegen der Tiere behilflich waren.

Bei der Herbonis AG, Basel, Schweiz bedanken wir uns für die Bereitstellung der Pflanzenextrakte und die umfassende Zusammenarbeit.

Für die Hilfe und Beratung bei der Erstellung der Statistik danke ich Frau Dr. Sauter-Louis und Frau Nunnenmacher.

Ein herzliches Dankeschön geht an die Mitarbeiter des Lehrstuhls für Tierernährung. Ohne deren Hilfe und Anleitung wäre die Analyse der Proben erschwert gewesen. Besonderer Dank gilt Herrn Werner Hesselbach, Frau Elke Kleiner und Christian Overdiek, die stets für fachliche Fragen ein offenes Ohr hatten und durch ihren Humor die Arbeit erleichterten. Bei Dr. Julia Fritz, Adrian Frille, Steffen Mitschke, Verena Hohenester und Sonja Sedlaczek bedanke ich mich für die Unterstützung und Hilfe bei der Probenentnahme.

Bei meinen Mitdoktoranden und Freunden Kathrin Hatzmann, Petronilla Finkenzeller, Lena Schumacher und Fabian Wendel möchte ich mich recht herzlich für die tolle Zeit bedanken. Auch in schwierigen Phasen der Doktorarbeit hattet ihr immer ein offenes Ohr für mich.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meiner Mutter und meinen Großeltern für die jahrelange und liebevolle Unterstützung während meines Studiums und der Dissertation. Ohne Euch wäre das alles nicht möglich gewesen.