

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Universitätsklinik für Wiederkäuer  
(Leiter: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Thomas Wittek Dipl.ECBHM)

**Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Harn in Relation zu der  
Konzentration von fibroblast-growth-factor-23 im Blut normo- und  
hypokalzämischer Milchkühe**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Klara Wienerroither

Wien, im Dezember 2021

Betreuer:

**Priv.Doz. Dr. Johannes Lorenz Khol, Dipl. ECBHM**

Universitätsklinik für Wiederkäuer

Department für Nutztiere und öffentliches

Gesundheitswesen

Veterinärmedizinische Universität Wien

Zweitbegutachter:

**Univ.-Prof. Dr.med.vet. Dr.med. Reinhold Erben**

Institut für Physiologie, Pathophysiologie und Biophysik

Abteilung für Physiologie, Pathophysiologie und  
experimentelle Endokrinologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

## Inhalt

1 Einleitung.....	4
2 Literaturübersicht.....	7
2.1 Klinik der Gebärparese.....	7
2.2 Sekundärerkrankungen.....	9
2.3 Regulation der Kalzium- und Phosphorhomöostase.....	9
2.4 FGF-23 und seine Rolle im Kalziumstoffwechsel.....	13
2.5 Hypokalzämie und der Säure-Basen-Haushalt.....	16
2.6 Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung.....	17
2.7 Diagnose der Gebärparese.....	21
2.8 Therapie der Gebärparese.....	23
2.9 Prophylaxe der Gebärparese.....	25
3 Tiere, Material und Methoden.....	31
3.1 Statistische Auswertung.....	34
4 Ergebnisse.....	36
4.1 Vergleich der Parameter und Gruppen.....	40
4.2 Zusammenhang von NSBA und FGF-23 <i>ante</i> und <i>post partum</i> .....	42
4.3 Zusammenhang zwischen FGF-23 und der Blutkalziumkonzentration.....	42
4.4 Zusammenhang von Kalzium und der NSBA.....	43
4.5 Vorhersage einer Hypokalzämie <i>post partum</i> mittels NSBA <i>ante partum</i> .....	44
4.6 Vorhersage einer Hypokalzämie <i>post partum</i> mittels FGF-23 <i>ante partum</i> .....	47
5 Diskussion.....	49
5.1 Detailbetrachtung der NSBA zwei Wochen <i>ante partum</i> bis vier Tage <i>post partum</i> ....	50
5.2 Zusammenhang von FGF-23, NSBA und Kalzium <i>ante</i> und <i>post partum</i> .....	52
5.3 Vorhersage des Kalziumgehalts <i>post partum</i> anhand der NSBA <i>ante partum</i> .....	52
5.4 Vorhersage des Kalziumgehalts <i>post partum</i> anhand von FGF-23 <i>ante partum</i> .....	53
5.5 Schlussfolgerung.....	53
6 Zusammenfassung.....	55
7 Summary.....	57
9 Literaturverzeichnis.....	61
10 Abbildungsverzeichnis.....	73
11 Tabellenverzeichnis.....	74

## 1 Einleitung

Die klinische Form von Hypokalzämie beim Rind hat viele Namen: Gebärparese, puerperales Festliegen, Milchfieber, Kalbfieber oder Gebärkoma und tritt weltweit in landwirtschaftlichen Betrieben mit intensiver Milchviehhaltung auf (Martig 2002). Die Auswirkungen dieser Stoffwechselerkrankung können gravierend sein. So muss der Landwirt oder die Landwirtin bei der subklinischen Form der Gebärparese pro Fall mit Verlusten von bis zu 200 Euro rechnen, bei der klinischen Form mit bis zu 300 Euro. Diese Summen setzen sich zusammen aus Behandlungsaufwand, verminderter Milchleistung, verlängerter Güstzeit und einem erhöhtem Risiko für Folgeerkrankungen (Mahlkow-Nerge 2008). Im Durchschnitt erkranken fünf bis zehn Prozent aller adulten Milchkühe an Milchfieber (Martig 2002). Von der subklinischen Form der Hypokalzämie sind Berichten zufolge sogar bis zu 50 Prozent der peripartalen Rinder betroffen (Horst et al. 2003, 2003, Reinhardt et al. 2011). Laut Daten des Tiergesundheitsdienstes waren Jahr 2011 in Österreich ungefähr 4,05 % aller Kühe im Gesundheitsmonitoring-Programm von postpartalem Festliegen betroffen (TGD 2011). Die einzelnen Betriebe zeigen hierbei aber eine hohe Schwankungsbreite mit Häufigkeiten von bis zu 30 Prozent (Dirisamer und Miklis 2017).

Die Wahrscheinlichkeit, dass eine Kuh an Milchfieber erkrankt, nimmt mit steigender Milchleistung und dem Alter zu, so steigt sie beispielsweise bei jeder weiteren Laktation um 9 Prozent (DeGaris und Lean 2008). Als mögliche Gründe dafür werden ein erhöhter Kalziumbedarf beziehungsweise -verlust während der Laktation, insbesondere bei hoher Milchleistung, und eine mit dem Alter abnehmende Zahl der Hormonrezeptoren auf den Zielzellen und eine daraus resultierende Verzögerung der Mobilisationsprozesse diskutiert (Mahlkow-Nerge 2008). Ältere Kühe zeigen auch eine höhere Milchleistung und erhöhte Futteraufnahme *ante partum*, wodurch der Unterschied im Kalziummetabolismus vor und nach der Kalbung vergrößert wird (Martin-Tereso und Martens 2014). Weiters wird die Wahrscheinlichkeit einer Milchfiebererkrankung maßgeblich von Nahrungs- und besonders Fütterungsfehlern vor allem während der letzten zwei Wochen der Trockenstehzeit beeinflusst (Mahlkow-Nerge 2008).

Die Erkrankung tritt typischerweise ein bis zwei Tage nach dem Abkalben auf, da diese Stoffwechselstörung ätiologisch mit dem Einsetzen der Milchsynthese zusammenhängt, kann aber auch schon vor, während oder unmittelbar nach der Geburt auftreten. In Ausnahmefällen kann es auch erst drei bis sieben Tage nach dem Partus oder noch später zu einer Milchfiebererkrankung kommen (Martig 2002).

Hypokalzämie resultiert aus einer Störung des Kalzium-, Phosphor-, Vitamin-D- und Skelettstoffwechsels (Mahlkow-Nerge 2008) und hat ihre Ursache in der bei der Geburt beginnenden Laktation und dem damit verbundenen gesteigerten Kalziumbedarf (Martig 2002). Physiologisch ist der Großteil des Gesamtkalziums im Skelett gelagert, nur ungefähr 0,3 %, das entspricht bei einem adulten Rind etwa 15 bis 20 Gramm, ist im Körper rasch verfügbar. Während der Trächtigkeit wird aus dem Pool von rasch verfügbarem Kalzium jenes zur Verfügung gestellt, welches für die Skelettbildung des Fetus benötigt wird. Aus diesem Pool stammt auch das während der Laktation in der Milch enthaltene Kalzium. In einem Liter Milch sind ungefähr 1,25 g Kalzium enthalten, im Kolostrum ist dieser Gehalt mit 1,8 – 2,5 g pro Liter noch höher. Der Kalziumbedarf für den fetalen Skelettaufbau beträgt in der Trockenstehzeit 4 – 5 g pro Tag, somit nimmt mit Beginn der Milchproduktion der Bedarf an rasch verfügbarem Kalzium um ein Mehrfaches zu. Dadurch sinkt der Gehalt an frei verfügbarem Kalzium bei allen Kühen zu diesem Zeitpunkt ab und es kommt zu einer Hypokalzämie, die physiologischerweise den Wert von 1,9 mmol/l im Serum nicht wesentlich unterschreitet. Bei Tieren, die an Gebärgparese, der klinischen Form der Hypokalzämie, erkranken, sinkt dieser Wert hingegen unter 1,5 mmol/l (Martig 2002).

Zugrundeliegend ist hierbei, dass im Falle einer Milchfiebererkrankung die Kontrollmechanismen zur Verhinderung von Hypokalzämie nicht ausreichend funktionieren. Große Kalziumdefizite können renal nicht ausgeglichen werden und die Mechanismen der gastrointestinalen Absorption sowie Resorption aus dem Knochen setzen erst ein bis zwei Tage später ein (Martin-Tereso und Martens 2014). So können zu Beginn der Laktation die physiologischen Kalziumkonzentrationen durch die homöostatischen Mechanismen nicht mehr aufrechterhalten werden (Goff und Horst 1997a). Es kommt somit zu einer Diskontinuität zwischen Kalziumverbrauch für das fetale Wachstum und der Milchproduktion (Ramberg et al. 1984). Bei der Geburt muss der Kalziumtransfer der Kuh umgestellt werden, da das Kalzium nicht mehr, wie im Verlauf der Trächtigkeit, zum Kalb geleitet wird, sondern in die Milchdrüse kommt. Dies stellt für andere Säugetiere und Rinder, die nicht den Milchrassen angehören, üblicherweise kein Problem dar, doch da Milchkühe einen sehr hohen und abrupten Kalziumverlust im Blut erfahren, entwickeln einige von ihnen Hypokalzämie unterschiedlichen Grades (Martin-Tereso und Martens 2014). Hierbei zeigen Kühe mit einem höheren Milchproduktionspotential auch ein höheres Risiko, an Milchfieber zu erkranken (Curtis et al. 1984).

In den letzten beiden Wochen vor der Geburt kommt es im Stoffwechsel von Kühen aufgrund verminderter Kaliumaufnahme und -ausscheidung zu einer zunehmenden Säuerung (Hörügel und Fürll 1998). Neben der Messung des pH-Wertes, steht in der Untersuchung des Harnes eine weitere Methode zur Verfügung, die eine genaue Aussage über den Säure-Basen-Haushalt erlaubt: die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA). Sie zeigt azidotische und alkalotische Belastungen sensibel und noch vor Veränderungen des pH-Wertes an und eignet sich auch für die Einschätzung des Gebärpareserisikos von hochträchtigen Kühen (Moritz et al. 2014).

In den letzten Jahren wurde intensiv an der Rolle des fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) im Kalzium- und Phosphorhaushalt geforscht. Als wichtigste Funktion supprimiert dieser Wachstumsfaktor die Vitamin-D-Hormon-Synthese in der Niere, wodurch vermehrt Phosphor ausgeschieden und gleichzeitig Kalzium bewahrt wird (Erben 2018). Außerdem wird durch FGF-23 die Kalziumreabsorption in der Niere stimuliert und der Parathormon-Signalweg moduliert (Andrukhova et al. 2016). Somit stellt FGF-23 sowohl eine negative Feedback-Achse zwischen Knochen und Niere (Erben 2015), als auch zwischen Knochen und Nebenschilddrüse dar (Erben 2016). Studien über den Zusammenhang dieses Faktors mit dem Auftreten von Gebärparese wurden bis dato nicht durchgeführt.

Mithilfe dieser Untersuchung soll festgestellt werden, inwiefern die NSBA im Harn mit der FGF-23-Konzentration im Blut im Zusammenhang steht und ob durch die Kombination dieser beiden Werte ein Zusammenhang mit dem Auftreten einer Hypokalzämie *post partum* erkennbar ist und diese beiden Parameter somit zur Vorhersage einer solchen verwendet werden können. Als Arbeitshypothesen soll überprüft werden, ob Kühe mit hypokalzämischer Gebärparese im Vergleich zu normokalzämischen Tieren sowohl eine Erhöhung der FGF-23-Konzentration im Blut als auch einen erhöhten NSBA-Wert im Harn zeigen und ob diese beiden Parameter auch vor der Geburt mit dem Auftreten von Hypokalzämie *post partum* assoziiert sind.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Klinik der Gebärparese

Die klinische Gebärparese tritt in drei Erscheinungsformen auf: Der klassischen hypokalzämischen Form (Gebärkoma), der „atypischen“ bzw. hypophosphatämischen Form und der tetanoiden Form.

Die klassische hypokalzämische Form ist durch eine Hypokalzämie charakterisiert, die sich ein bis drei Tage um die Geburt als Folge ungenügender Mobilisierbarkeit von Kalzium aus dem Knochen entwickelt. Diese Form ist in Abhängigkeit einer schlaffen Lähmung und des Schweregrads mit weiteren Organfunktionsstörungen (Gastrointestinaltrakt, Herz-Kreislauf-System, Zentrales Nervensystem) gekoppelt (Hofmann et al. 2005). Der Mangel an Kalzium ist hier jedoch nicht durch die Nahrung oder den Verlust über die Milch bedingt, sondern vor allem auf die unzureichende Anpassungsgeschwindigkeit des Kalziumhaushaltes an die Situation *post partum* zurückzuführen (Martin-Tereso und Martens 2014). Die atypische Form der Gebärparese ist durch eine Hypophosphatämie gekennzeichnet und bei der tetanoiden Form tritt neben der Hypokalzämie und Hypophosphatämie zusätzlich eine Hypomagnesämie auf. Der Begriff „Downer cow syndrome“ bezeichnet festliegende Kühe, die innerhalb 24 Stunden nicht auf die (zweimalige) Therapie der Gebärparese ansprechen (Hofmann et al. 2005). Bei diesen Patientinnen ist immer der Verdacht auf sekundäre Ursachen des Festliegens gegeben (Rossow und Bolduan 1994) und dieser sollte durch labordiagnostische Untersuchungen abgeklärt werden (Gelfert et al. 2006).

Prädisponierende Faktoren für die Entwicklung einer Gebärparese sind eine übermäßige Kalzium- (> 80 g/Tag) und/oder Phosphat-Versorgung (> 50 g/Tag) in der Trockenstehperiode, ein Alkaliüberschuss im Futter in dieser Zeit, ein erhöhter Body Condition Score (BCS) zum Zeitpunkt der Geburt (BCS > 4,0; Rückenfettdicke > 30 mm), hohe Milchleistung, zunehmendes Alter (ab der 3. Laktation) und eine anamnestisch bekannte frühere Erkrankung an Gebärparese. All diese Umstände wirken der Mobilisierbarkeit und Resorption von Kalzium mit Laktationsbeginn direkt entgegen (Hofmann et al. 2005).

Hypokalzämie ist vor allem in den ersten beiden Tagen *post partum* zu beobachten (Martig 2002), kann aber auch in den ersten zehn Tagen nach der Geburt (Bostedt et al. 1979) oder kurz vor dieser auftreten. Liegt eine Kuh *ante partum* fest, ist dies jedoch meist auf eine Osteomalazie zurückzuführen (Rossow und Bolduan 1994). Im Verlauf der Erkrankung lassen sich drei Stadien unterscheiden. Das erste Stadium ist nur von kurzer Dauer und die klinischen

Symptome, eine leicht verkrampfte Körperhaltung, eher unauffällig, weswegen dieses nicht selten übersehen wird. Bei Kühen mit Plazentaretention ist der Tonus der Gebärmutterwand in dieser Phase der Erkrankung stark vermindert und es lässt sich nur eine geringe Haftung der Nachgeburt feststellen (Martig 2002). Im zweiten Stadium ist das Stehvermögen meist noch erhalten, jedoch sind die betroffenen Rinder bereits träge, stehen ungern und ungelentk auf, zeigen eine verminderte Lust, sich niederzulegen wie auch einen schläfrigen Gesichtsausdruck. Im dritten Stadium, dem Gebärkoma, kommt es aufgrund einer schlaffen Lähmung der Muskulatur zum Festliegen in Sternallage, der klinischen Gebärparese. Die Tiere unternehmen auch nach Stimulation keine Versuche, aufzustehen, es kommt zu einer zunehmenden Somnolenz und einer autauskultatorischen Haltung (Martig 2002). Im Endstadium liegen die Tiere mit einer ausgeprägten Dyspnoe und Kreislaufversagen in Seitenlage und verenden schließlich im Koma (Hofmann et al. 2005).

Wenn die Hypophosphatämie das klinische Bild dominiert, sind die Kühe sensoruell ansprechbar. Bei Aufstehversuchen können die Hinterextremitäten von der Kuh kaum von der Liegefläche abgehoben werden, die Vorderextremitäten hingegen schon. Dies führt nicht selten zum Ausgrätschen und einer fischrobbeähnlichen Stellung (Hofmann et al. 2005). Das zentrale Nervensystem ist durch eine Hemmung der Glykolyse beeinträchtigt (Rossow und Bolduan 1994), weswegen die Tiere vermehrt schreckhaft sind (Hofmann et al. 2005).

Bei der klinischen Untersuchung zeigen sich eine meist erhöhte Herzfrequenz und eine deutlich verminderte Pansentätigkeit (Rossow und Bolduan 1994). Schon in einer früheren Phase ist häufig die Hautsensibilität im Bereich des Kreuzes und der Hinterextremität herabgesetzt, im Stadium der Gebärparese nimmt die allgemeine Paralyse zu (Martig 2002), die Reflextätigkeit ist stark herabgesetzt oder ausgeschaltet (Rossow und Bolduan 1994). Die Tiere liegen mit aufgetriebenem Abdomen und schwachem Puls in Seitenlage und zeigen eine oberflächliche, mitunter röchelnde Atmung, die zeitweise aussetzt. Sie reagieren auch nicht mehr auf äußere Reize. Außerdem ist die Körperoberfläche an den Akren und meist auch am Rumpf kühl und auch die innere Körpertemperatur ist erniedrigt. Zusätzlich zur erhöhten Herzfrequenz kann auch ein pochender Herzschlag, eine Arrhythmie und Stauung der Jugularvenen vorliegen (Martig 2002).

## 2.2 Sekundärerkrankungen

Die klinische Form der Hypokalzämie geht mit einem erhöhten Risiko einher, *post partum* andere für diesen Zeitraum typische Erkrankungen wie Mastitis, Plazentaretention, Metritis und Labmagenverlagerung zu entwickeln (Curtis et al. 1983, Goff 2008, Goff und Horst 1997b, Mulligan et al. 2006).

Auch bei Kühen mit subklinischer Hypokalzämie wurde ein höheres Metritis-Risiko beschrieben (Martinez et al. 2012). In einer anderen Studie war dies zwar nicht der Fall, jedoch zeigten Rinder, die an der subklinischen Form der Hypokalzämie litten, in der ersten Woche *post partum* ein erhöhtes Risiko einer Labmagenverlagerung (Chapinal et al. 2011). Ursächlich hierfür könnte eine Labmagenatonie und Gasakkumulation im Abomasum sein (Doll et al. 2009, Madison und Troutt 1988). In einer weiteren Studie aus dem Jahr 2018 konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen der Kalziumkonzentration kurz nach der Abkalbung und dem Auftreten von Metritis, Plazentaretention oder einer klinischen Mastitis-Erkrankung festgestellt werden (Neves et al. 2018). Diese verschiedenen Ergebnisse zeigen, dass Hypokalzämie zwar zu weiteren Krankheiten, die im Zuge der Abkalbung oder unmittelbar danach auftreten können, führen kann, aber nicht voreilig als deren Ursache festgelegt werden sollte (Martin-Tereso und Martens 2014).

## 2.3 Regulation der Kalzium- und Phosphorhomöostase

Kalzium ist ein extrazelluläres Kation und gemeinsam mit Magnesium für die Aufrechterhaltung vieler Zellfunktionen unerlässlich (Thèbault et al. 2006). In den Zellen selbst ist der Gehalt an ionisiertem Kalzium sehr gering (Case et al. 2007), im Extrazellularraum hingegen wird Kalzium immer auf konstanten Levels gehalten, um die physiologischen Funktionen aufrechtzuerhalten, für die es benötigt wird. Insgesamt enthält der Organismus einer adulten Kuh ungefähr 10 kg Kalzium, wovon 98 Prozent in den Knochen gelagert ist, der Rest befindet sich im Extrazellularraum (Martin-Tereso und Martens 2014).

Der Gehalt an Kalzium im Serum wird durch hormonelle Signale kontrolliert, von denen die wichtigsten Parathormon (PTH) und 1,25-Dihydroxyvitamin D (Calcitriol) sind (Martin-Tereso und Martens 2014). Diese modulieren vor allem die tubuläre Kalzium-Reabsorption in der Niere und den transepithelialen Kalziumtransport im Gastrointestinaltrakt (Breves et al. 2010)

sowie den Kalzium-Turnover im Knochen (Erben 2001). Im Folgenden werden die endokrinen Regulationsmechanismen der Kalziumhomöostase genauer beschrieben.

### **Vitamin D**

Unter physiologischen Bedingungen stellt die Niere die einzige Quelle für im Blut zirkulierendes  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D (Calcitriol,  $1,25\text{-D}_3$ ) dar. Calcitriol entsteht in den Mitochondrien des proximalen Tubulus durch die Hydroxylierung von  $25\text{-D}_3$  (Calcidiol), welches in der Leber aus Vitamin D synthetisiert wird. In der Gravidität spielt aber auch die extrarenale Produktion von Calcitriol durch die  $1\alpha$ -Hydroxylase in der Plazenta eine Rolle. Neben dieser Hydroxylierungsreaktion existiert in der Niere noch eine zweite, die  $24$ -Hydroxylierung zu  $24,25$ -Dihydroxycholecalciferol ( $24,25\text{-D}_3$ ), welche im Wesentlichen eine Inaktivierung des Substrats  $24,25\text{-D}_3$  darstellt (Erben 2015). Diese Reaktion erfolgt infolge einer fehlenden Stimulation oder einem Überwiegen der hemmenden Signale der Vitamin-D-Hormon-Synthese (Baum et al. 2010).

Die renale  $1\alpha$ -Hydroxylierung von  $25\text{-D}_3$  unterliegt einer strengen Regulation, wobei PTH, Calcitriol, Phosphat und der fibroblast growth factor 23 (FGF-23) dabei am bedeutendsten sind. Die  $1\alpha$ -Hydroxylierung wird durch PTH aktiviert, während Calcitriol, Kalzium und Phosphat diese hemmen. Im Gegensatz dazu wird die  $24$ -Hydroxylierung durch Calcitriol, Kalzium und Phosphat aktiviert und durch PTH inhibiert. FGF-23 supprimiert die Expression der  $1\alpha$ -Hydroxylase in der Niere und hemmt die tubuläre Phosphat-Rückresorption. Sezerniert wird dieser Wachstumsfaktor von den Osteozyten in Abhängigkeit von u.a. Phosphat und Calcitriol und er stellt eine zusätzliche negative Feedback-Achse zwischen Knochen und Niere dar (Erben 2015).

Calcitriol, das Vitamin-D-Hormon, stellt das eigentlich biologische Prinzip des Vitamin-D-Hormonsystems dar und wirkt über eine Interaktion mit dem Vitamin-D-Rezeptor als Steroidhormon (Erben 2015).

Die biologisch wichtigste Funktion von Calcitriol ist die Stimulation der intestinalen Kalzium- und Phosphorabsorption. Außerdem wird die tubuläre Kalziumresorption gefördert. Calcitriol hat in physiologischen Konzentrationen zwar wahrscheinlich keine direkte Wirkung am Knochen, die externe Gabe dieses Hormons führt in hoher Dosis aber trotzdem zu einer initialen Erhöhung der Knochenresorption, die einige Tage andauert. Im Gegensatz dazu kommt es bei chronischer Verabreichung nach der resorptiven Frühphase zu einer Stimulation der Knochenformation und einer Zunahme der Knochenmasse (Erben 2015).

## **Parathormon**

PTH wird in den Epithelkörperchen, also den Nebenschilddrüsen, gebildet. Der primäre Stimulus für eine PTH-Sekretion ist ein Abfall der Konzentration von ionisiertem Kalzium im Plasma, welcher über einen calcium-sensing-receptor in der Membran der PTH-sezernierenden Zellen erfasst wird. Die PTH-Sekretion ist magnesiumabhängig und wird durch Calcitriol auf der Ebene der Transkription gehemmt (Erben 2015).

PTH führt durch einige verschiedene Wirkungen zu einer Erhöhung des Kalziumspiegels im Serum. In der Niere steigert es die tubuläre Kalziumresorption und hemmt die Resorption von Phosphat. Außerdem stimuliert PTH die renale Synthese von Calcitriol und hemmt die Bildung von 24,25-D<sub>3</sub>. Als akute Wirkung von PTH kommt es im Knochen zu einer Mobilisierung von Kalzium, da der Kalziumausstrom über ruhende Knochenoberflächen zunimmt und gleichzeitig der osteoklastäre Knochenabbau stimuliert wird (Erben 2015). Hierbei induziert ein pulsatile PTH-Signal Anabolismus im Knochen, ein konstantes Signal hingegen Katabolismus (Lemaire et al. 2004). Bei längerer Stimulation des Knochenabbaus kommt es zusätzlich zu einer Zunahme der Remodelling-Aktivität (Erben 2015).

Kurzgefasst sind die Hauptwirkungen von PTH eine erhöhte Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen, eine gesteigerte Konservierung von Kalzium in der Niere und, über Calcitriol vermittelt, eine indirekte Steigerung der Kalziumabsorption. All dies führt zu einem Anstieg der Kalziumkonzentration im Serum (Erben 2015).

## **Calcitriol**

Calcitriol hat einen direkten Einfluss auf die Kalziumabsorption im Gastrointestinaltrakt, wodurch bedeutende Mengen an Kalzium zur Kompensation von Defiziten bereitgestellt werden können (Martin-Tereso und Martens 2014). Kalzium aus dem Knochen kann in der frühen Laktation, wenn der Verbrauch von Kalzium durch die Milch in hohem Maße über das alimentär verfügbare Kalzium hinausgeht, ebenfalls zur Kompensation von Kalziumdefiziten beitragen (Taylor et al. 2008). Jedoch ist nur ein sehr geringer Teil von Kalzium im Knochen sofort verfügbar (Liesegang et al. 2000). Extensiver Knochenmetabolismus wird von Calcitriol nur dann induziert, wenn das PTH-Signal nicht nachlässt (Martin-Tereso und Martens 2014). Allein wenn die Kalziumkonzentration durch Kalziumabsorption nicht aufrechterhalten werden kann, kommt der Knochenmetabolismus ins Spiel (Erben 2001). Bei therapeutischem Einsatz von Calcitriol in akuten Fällen von Hypokalzämie kooperiert dieses mit PTH und erhöht die

Knochenresorption, jedoch ist Calcitriol auch dafür bekannt, bei kontinuierlichen Applikationen die Knochenresorption zu stoppen (Erben 2001).

Calcitriol ist abhängig von PTH und PTH spiegelt sehr schnell Effekte auf den Kalziumgehalt im Serum wider. Dementsprechend können die Wirkungsweisen dieser beiden Hormone weder getrennt voneinander betrachtet werden noch unabhängig von ihrer Reaktion auf den Kalziumspiegel im Blut (Martin-Tereso und Martens 2014).

### **Calcitonin**

Calcitonin ist der Gegenspieler von PTH, seine physiologische Rolle beim Säugetier ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Dieses Hormon wird in der Schilddrüse gebildet und bei einem Anstieg der Konzentration von ionisiertem Kalzium im Blut ausgeschüttet. Calcitonin hemmt die Knochenresorption und wirkt hypokalzämisch, indem es den Kalziumausstrom aus den Knochen hemmt und im Knochen zu einer vermehrten Kurzspeicherung von Kalzium und Phosphat führt (Erben 2015).

In der Regel treten all diese Effekte aber erst bei unphysiologisch hohen Dosen ein. Weiters kommt es weder bei Fehlen von Calcitonin noch massiver Überproduktion zu wesentlichen Störungen der Kalziumhomöostase (Erben 2015).

All diese genannten Regulationsmechanismen der Kalziumhomöostase führen unter physiologischen Bedingungen jedoch erst nach 24 bis 48 Stunden zu einer Normalisierung der Kalziumkonzentration (Rossow und Bolduan 1994). Das ist auch der Grund, warum bei jeder Kuh mit einsetzender Milchproduktion der Kalziumspiegel im Blutplasma zunächst einmal absinkt. Es erkranken die Tiere an Gebärpause, die nicht schnell genug und in ausreichender Menge auf den Kalziummangel reagieren können (Baum et al. 2010).

## 2.4 FGF-23 und seine Rolle im Kalziumstoffwechsel

Der fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) stammt aus dem Knochen und ist ein endokriner Regulator der Phosphorhomöostase (Andrukhova et al. 2012). FGF-23 wird von Osteozyten und Osteoblasten als Antwort auf erhöhte Konzentrationen von Phosphat und Vitamin D sezerniert und bewirkt vor allem in der Niere eine Herabregulation der tubulären Phosphatwiederaufnahme sowie eine verminderte Expression der  $1\alpha$ -Hydroxylase (Jüppner et al. 2010). Nur die intakte Form von FGF-23 ist biologisch aktiv. Funktionseinschränkende Mutationen an der Spaltstelle von FGF-23 führen zu einer Störung der Glykosylierung und folglich vermehrten Ausschüttung von gespaltenem FGF-23 und einer daraus resultierenden FGF-23-Defizienz (Ichikawa et al. 2009, Kato et al. 2006, Topaz et al. 2004). In den Zellen des Knochens wirkt FGF-23 als ein auto- und parakriner Faktor zur Regulierung der Knochenmineralisation (Murali et al. 2016). FGF-23 schützt den Körper vor den unerwünschten Folgen einer Hyperphosphatämie, indem es Vitamin D herunterreguliert und die Phosphatausscheidung über den Harn erhöht (Erben 2016). Hohe Konzentrationen von FGF-23 im Blut führen daher zu einer vermehrten Ausscheidung von Phosphor (Erben 2018). So kann FGF-23 bei Hyperphosphatämie durch seine kalziumbewahrende Funktion trotz Suppression der Synthese des Vitamin-D-Hormons zur Konservierung von Kalzium beitragen (Erben 2016). Die Sezernierung von FGF-23 ist unter anderem von Phosphat und Calcitriol abhängig (Erben 2015) und durch extrazelluläres Kalzium kann die Wirkung von FGF-23 zusätzlich verstärkt werden (Quinn et al. 2013). FGF-23 stellt somit eine zusätzliche negative Feedback-Achse der Kalziumhomöostase zwischen Knochen und Niere dar. Die beeinflusste Expression der  $1\alpha$ -Hydroxylase inhibiert die Hydroxylierung von Vitamin D zu  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D ( $1,25$ -D<sub>3</sub>), dem Vitamin-D-Hormon (Erben 2015), welches die intestinale Kalzium- und Phosphorabsorption stimuliert (Erben 2018). Die Supprimierung der  $1\alpha$ -Hydroxylase ist ein physiologisch essentieller Prozess, da ein Funktionsverlust von FGF-23 oder dem Transmembranprotein  $\alpha$ Klotho zu einer unkontrollierten Produktion von  $1,25$ -D<sub>3</sub> mit nachfolgender Hyperkalzämie, Hyperphosphatämie und Kalzifikation von Weichteilgewebe führt (Ichikawa et al. 2007, Shimada et al. 2004, Sitara et al. 2004).

FGF-23 wirkt außerdem als auto- und parakriner Regulator der Knochenmineralisation indem die nicht-gewebespezifische alkalische Phosphatase (TNAP) in den Osteozyten und Osteoblasten gehemmt wird (Murali et al. 2016). Die TNAP ist essentiell für die Regulation dieses Prozesses, indem sie Pyrophosphat, einen Inhibitor zur Verhinderung frühzeitiger Mineralisation von Knochen, spaltet (Addison et al. 2007).

Die zellulären Signalwege von FGF-23 erfordern die gleichzeitige Anwesenheit von FGF-Rezeptoren und dem Transmembranprotein  $\alpha$ Klotho, das als Co-Rezeptor von FGF-23 fungiert (Urakawa et al. 2006).  $\alpha$ Klotho wird hauptsächlich im distalen Tubulus der Niere exprimiert (Kuro-o et al. 1997), der Hauptregulationsort der Phosphorexkretion ist jedoch der proximale Tubulus (Baum et al. 2005). Im distalen Tubulus der Niere wirkt FGF-23 kalzium- und natriumkonservierend, was sich als physiologisch relevant herausgestellt hat (Erben 2018). Es wurde lange davon ausgegangen, dass FGF-23 nur am distalen Tubulus wirkt und ein unbekanntes endokrines oder parakrines Signal zurück zum proximalen Tubulus generiert (Farrow et al. 2010, White und Econs 2008), jedoch zeigten weitere Studien, dass auch das Epithel des proximalen Tubulus  $\alpha$ Klotho exprimiert. Auch FGF-23 wirkt direkt auf den proximalen Tubulus und führt an der Membran zu einer herabregulierten Expressierung eines Typ-II-Natrium-Phosphat-Cotransporters. Diese Wirkung auf das proximale Tubulusepithel erzielt FGF-23 durch seinen kanonischen Signalweg, der von  $\alpha$ Klotho und FGF-Rezeptoren abhängig ist (Andrukhova et al. 2012). Außerdem hat sich gezeigt, dass FGF-23 ein wichtiger Regulator des epithelialen Transienten-Rezeptor-Potential-Vanilloid-5-Kalziumkanals (TRPV-5) in den distalen Tubuli ist (Andrukhova et al. 2014). TRPV-5 wird für den apikalen Kalziumeinstrom in kalziumtransportierende Zellen im Epithel der Niere benötigt und die Expression dieses Rezeptors an der apikalen Membran limitiert weiters den transzellulären Kalziumtransport im distalen Tubulus (Lambers et al. 2006). Dieser Umstand weist auf einen parallelen, unabhängigen Effekt von FGF-23 auf die proximalen und distalen Tubuli der Niere hin (Andrukhova et al. 2012).

Aber auch PTH verbindet die phosphaturischen mit den kalziumkonservierenden Aufgaben der Niere und wirkt an ähnlichen Kanälen und Transportern wie FGF-23 (Bacic et al. 2003, Cole 1999, Eleanor D. Lederer et al. 2000, Weinman et al. 2007). Außerdem stimuliert eine erhöhte endogene PTH Sekretion die osteoklastische Knochenresorption. Der FGF-23-Signalweg wird auch benötigt, damit Niere und Knochen auf die kontinuierliche PTH-Signal reagieren (Andrukhova et al. 2016). Bezüglich der Beeinflussung der Hydroxylierungsvorgänge wirkt PTH reziprok zu FGF-23, die Wirkungen der beiden Hormone auf die proximalen und distalen Tubuli der Niere hingegen überlappen sich teilweise (Erben 2018).

Es ist ausführlich dokumentiert, dass FGF-23 die PTH-Sekretion supprimiert (Ben-Dov et al. 2007, Olauson et al. 2013) und eine negative Feedback-Achse zwischen Knochen und Nebenschilddrüse, der Bildungsstätte von PTH, darstellt (Erben 2016). Die molekularen

Mechanismen hinter der Wirkungsweise von FGF-23 auf PTH bleiben bisweilen aber noch unklar (Erben 2016). Jedoch deuten die Ergebnisse einer weiteren Studie darauf hin, dass die FGF-23 Signalübertragung im distalen Nephron eine chronische Kalziumausscheidung induziert, was im Gegenzug eine Hochregulierung der PTH Sekretion bewirkt (Han et al. 2016). Außerdem zeigte eine frühere Studie, dass FGF-23, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Andrukhova et al. 2016, nicht essentiell für knochenaufbauende und phosphaturische Wirkung von PTH ist (Yuan et al. 2011). Eine Erklärung für diese unterschiedlichen Ergebnisse könnte in der Wirkungsweise von PTH im Knochen liegen, da die intermittierende PTH-Ausschüttung im Knochen einen anabolen Effekt hat (Lavi-Moshayoff et al. 2009, Poole und Reeve 2005, Potts 2005), ein kontinuierliches Signal aber den Knochenabbau stimuliert (Datta und Abou-Samra 2009, Poole und Reeve 2005). Also könnten die Effekte eines intermittierenden PTH-Signals auf den Knochen im Gegensatz zu denen eines kontinuierlichen Stimulus von FGF-23 unabhängig sein (Andrukhova et al. 2016).

Zusätzlich zur Hemmung der renalen Phosphorabsorption und der Synthese des Vitamin-D-Hormons in den proximalen Tubuli stimuliert FGF-23 auch die Kalziumreabsorption in den distalen Tubuli der Niere (Andrukhova et al. 2016). Durch einen Mangel an FGF-23 oder  $\alpha$ Klotho werden die phosphaturischen, kalziumkonservierenden und Knochenresorption-stimulierenden Effekte von PTH geschwächt. Hieraus lässt sich ableiten, dass FGF-23 ein wichtiger Modulator des PTH-Signalweges in Knochen und Niere ist (Andrukhova et al. 2016). Außerdem ist FGF-23 auch ein natriumkonservierendes Hormon (Han et al. 2016). Überhöhte Konzentrationen von intaktem, zirkulierendem FGF-23 führen beim Menschen zu sogenannten „Phosphat-Wasting Disorders“ wie der tumorinduzierten Osteomalazie (TIO) oder der autosomal dominant vererbten hypophosphatämischen Rachitis (ADHR) (Baroncelli et al. 2012, The ADHR Consortium 2000).

Die wichtigste physiologische Funktion von FGF-23 stellt jedoch die Suppression der Vitamin-D-Hormon Produktion in der Niere dar (Erben 2018).

## 2.5 Hypokalzämie und der Säure-Basen-Haushalt

Störungen des Säure-Basen-Haushaltes können metabolisch oder respiratorisch durch Addition, Subtraktion oder Retention von Säuren bzw. Basen entstehen. Zur Kompensation dieser stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung: Pufferung und Elimination. Die Elimination von Säuren und Basen erfolgt pulmonal oder renal. Unter den Blutpuffern macht das Bicarbonat-Puffersystem den größten Anteil von 50 Prozent aus, andere bedeutende Systeme sind das Hämoglobin-System, die Pufferung über Plasmaproteine und das Phosphatsystem. Zu pH-Wert-Veränderungen als Zeichen von Dekompensation kommt es erst, wenn die Puffersysteme erschöpft sind (Fürll 1993).

Alkalotische Belastungen können infolge absoluter oder relativer Proteinübersorgung wie auch durch zu hohe Gaben von alkalischen Mineralstoffgemischen entstehen (Fürll 1993). Die häufigste fütterungsbedingte Ursache für die Entstehung einer metabolischen Alkalose bei Milchkühen ist jedoch ein hoher Kaliumgehalt in der Ration (Goff und Horst 1997a). Durch eine metabolische Alkalose wird die Antwort des Gewebes auf ein PTH-Signal herabgesetzt und so die Kalziumhomöostase eingeschränkt (Goff und Horst 2003). Dies beruht auf einer Konformationsänderung des PTH-Rezeptors als Folge von erhöhten pH-Werten im Blut und einer resultierenden eingeschränkten Interaktion von PTH und seinem Rezeptor (Bushinsky 2001, Krapf et al. 1992). Dies trifft auch auf das Nierengewebe zu und die Niere kann infolgedessen die  $1\alpha$ -Hydroxylase nicht hinaufregulieren, wodurch 25-Hydroxyvitamin D nicht zu  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D umgewandelt werden kann. Als Folge ist sowohl die Kalziumabsorption aus dem Darm als auch die Kalziummobilisierungsrate aus dem Knochen verringert (Abu Damir et al. 1994), eine Alkalose ( $\text{pH} > 7,45$ ) induziert eher einen Kalziumfluss in den Knochen hinein (Baum et al. 2010).

Ist der pH-Wert im Blut jedoch verringert, liegt also eine Azidose vor, werden aus dem Knochen Kationen, vor allem Kalzium, ausgeschüttet, um den pH-Wert wieder auf ein Normallevel zu bringen, da der Knochen als Säurepuffer fungiert (Goff und Horst 2003). Durch eine metabolische Azidose ( $\text{pH} < 7,35$ ) wird innerhalb von 1 – 2 Tagen auch der Knochenumbau stimuliert, wodurch sich der Kalziumpool im Knochen erhöht und weiteres Kalzium freigesetzt werden kann (Baum et al. 2010). Durch eine intrazelluläre Azidose wird die PTH-vermittelte Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) in der Niere gehemmt. Dadurch kommt es zu einer verminderten Kalziumrückresorption in den Tubuli und folgend einer Kalziurie. Weiters kommt es zu einer erhöhten Ausscheidung von Wasserstoffionen und als

Folge einer Verringerung des Bicarbonat-Gehalts im Harn. Dadurch ist auch die Nettoresorption von Natrium und Wasser in der Niere verringert, was zu einer verminderten passiven Kalziumrückresorption führt (Braithwaite 1976). Ausgeglichen wird dieser Verlust durch eine erhöhte Produktion von PTH, welches an den Erfolgsorganen wirkt und zu einer vermehrten Kalziumausscheidung führt (Horst et al. 1992).

## 2.6 Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung

Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA) bezeichnet die Differenz von Basen und Säuren im Harn (Moritz et al. 2014). Im Gegensatz zum pH-Wert, einem Maß für die freien, ungepufferten Wasserstoffionen, stellt die NSBA die Gesamtheit der Wasserstoffionen, auch der gepufferten, dar und ermöglicht so eine detailliertere Aussage über den Säure-Basen-Haushalt (Fürl und Kirbach 1997).

Säuren sind nach der Brönsted-Definition Protonendonatoren, geben also Wasserstoff-Ionen ( $H^+$ ) ab, Basen hingegen nehmen  $H^+$  auf und sind demnach Protonenakzeptoren (Moritz et al. 2014). Die Gesamtheit aus Säuren und Basen im Harn setzt sich zusammen aus:



Zur Bestimmung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung werden Harnproben unter sauberen Bedingungen mittels Harnkatheter nach gründlicher Reinigung der Vulva gewonnen (Fürl und Kirbach 1997). Bei der Durchführung der Analyse gibt es zwei Varianten: Die einfache NSBA, bei der man den Gesamtwert des Säure-Basen-Haushalts erhält und die fraktionierte NSBA, durch die sich die Säure-, die Basenzahl und der Ammoniumgehalt als Einzelkomponenten bestimmen lassen. Mit diesen Werten kann dann die NSBA berechnet werden. Das Prinzip zur Bestimmung der NSBA ist die Titration, bei der die Menge oder Konzentration einer unbekanntes Substanz ermittelt wird. Zu diesem Zweck wird der Verbrauch einer Substanz mit bekannter Konzentration bis zu einem definierten pH-Wert, beziehungsweise dem Farbumschlag, bestimmt. (Bender et al. 2003)

### Durchführung der NSBA

Um die NSBA zu bestimmen, stehen zwei Methoden zur Verfügung, die Makro- und die Mikromethode (Siebtest) (Moritz et al. 2014):

#### Makromethode

- 10 ml Harn schütteln + 1 n Salzsäure (HCl) bis pH-Wert < 4
- 10 ml Formalin zugeben + 6 Tropfen Phenolrot
- Mit 0,1 n Natriumhydroxid (NaOH) bis zum Farbumschlag titrieren (Magnetrührer)

Die Berechnung der NSBA ist dann wie folgt:

$$\text{NSBA (mmol/l)} = 10 * (10 * \text{ml 1 n HCl} - \text{ml 0,1 n NaOH})$$

#### Mikromethode

- 0,5 ml Harn + 0,2 ml HCl
- 5 min im Wasserbad erhitzen
- 0,5 ml Formalin-Phenolrot-Lösung
- Schrittweise 0,05 ml 1 n NaOH bis zum Farbumschlag zugeben

Bei dieser Methode kommt es zu einer sogenannten Formoltitration, Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) wird durch Formalin in Hexamethylentetramin als titrierbare Form überführt. In der geschilderten Weise, also zuerst mittels Titration mit HCl und folgender Rücktitration mit NaOH, wird die NSBA als Bilanzwert bestimmt (Moritz et al. 2014). Die Berechnung der NSBA bei der Mikrotitriermethode ist aus Tab. 1 zu entnehmen.

**Tab. 1:** Berechnung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung mittels Mikrotitriermethode (Moritz et al. 2014)

Zugegebene ml NaOH <sup>1</sup>	NSBA <sup>2</sup> (mmol/l)
0,050	> 300
0,100	300 – 200
0,150	200 – 100
0,200	100 – 0

<sup>1</sup>NaOH = Natriumhydroxid; <sup>2</sup>NSBA = Netto-Säure-Basen-Ausscheidung

Die sogenannte „fraktionierte NSBA“ erhält man bei einzelner Notation der Menge an Basen, Ammonium-Ionen und Säuren, wodurch eine differenzierte Bewertung möglich ist. Weiters kann man diese „Fraktionen“ in Beziehung zueinander setzen (Moritz et al. 2014):

$$\frac{\text{Basen (mmol/l)}}{\text{Säuren (mmol/l)} + \text{NH}_4^+ \text{ (mmol/l)}} = \text{Basen-Säuren-Quotient (BSQ)}$$

Durch diese Berechnung lässt sich die Abhängigkeit von Diureseschwankungen, die als variierende Harnmenge die NSBA beeinflussen, weitgehend eliminieren (Moritz et al. 2014).

Durch die NSBA werden Fütterungseinflüsse sensibel reflektiert, also Veränderungen des Futterbasenüberschusses (Futter-BE). Von diesem Umstand abhängig bestehen außerdem eine gewisse Tages- und eine deutliche Jahreszeitdynamik. Pflanzenfresser haben eine positive NSBA, es überwiegt Basenausscheidung, im Gegensatz zu Fleischfressern, bei denen die Säureausscheidung überwiegt (Moritz et al. 2014). Die Referenzbereiche für die NSBA beim Rind sind in Tab. 2 dargestellt.

**Tab. 2:** Referenzbereiche für die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung beim Rind (Moritz et al. 2014)

Spezies	NSBA <sup>2</sup> gesamt	Basen (mmol/l)	Säuren (mmol/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sup>3</sup> (mmol/l)	BSQ <sup>4</sup>
<b>Milchrind</b>	80 – 220	150 – 250	50 – 100	< 10	0,20 – 3,3
<b>Milchrind<sup>1</sup></b>	0 – 60	20 – 250	20 – 120	< 25	1,5 – 4,2
<b>Jungrind</b>	10 – 190	50 – 250	20 – 70	< 20	2 – 5

<sup>1</sup>Krafftutterreich gefütterte Hochleistungskühe in der Früh-laktation; <sup>2</sup>NSBA = Netto-Säure-Basen-Ausscheidung; <sup>3</sup>NH<sup>+</sup> = Ammonium, <sup>4</sup>BSQ = Basen-Säuren-Quotient

### Bewertung

Sowohl die NSBA als auch der BSQ zeigen sensibel azidotische und alkalotische Belastungen des Säure-Basen-Haushaltes an. Dabei treten Veränderungen der NSBA früher als jene des pH-Wertes auf, da der pH-Wert erst nach Erschöpfung des Puffervermögens reagiert, die NSBA aber schon die Beanspruchung des Puffers anzeigt (Moritz et al. 2014), beispielsweise sinkt die NSBA bei dreiwöchiger azidotischer Belastung bis zum fünften Tag ab, während der pH-Wert zwölf Tage dafür braucht (Fürll 1993). Weiters können Abweichungen im Harn

festgestellt werden, wenn Belastungen des Säure-Basen-Haushaltes in Folge renaler Kompensation auftreten, während zu diesem Zeitpunkt im Blut noch keine Abweichungen zu sehen sind (Moritz et al. 2014). Da die NSBA aber einen Differenzwert darstellt, wirkt sich eine Veränderung der Harnkonzentration selbst nicht erheblich auf ihre Größe aus (Fürl 1993). Deswegen ist die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Besonderen zum Nachweis von chronischen fütterungsbedingten Belastungen des Säure-Basen-Haushaltes geeignet. Metabolische Azidosen werden hierbei durch eine verminderte NSBA angezeigt, metabolische Alkalosen durch eine Zunahme der NSBA (Moritz et al. 2014) und einen deutlich gesteigerten BSQ (Fürl 1993).

### **Die NSBA um den Zeitraum der Geburt**

Hörügel und Fürl (1998) stellten fest, dass der Stoffwechsel von Kühen 14 Tage *ante partum* eine zunehmende Säuerung erfährt. Dies ist das Resultat einer verminderten Kaliumaufnahme und -ausscheidung, da der wachsende Fötus im Abdomen durch seinen erhöhten Platzbedarf die mögliche Ausdehnung des Pansens einschränkt. Dies äußert sich in einem kontinuierlichen Abfall der NSBA-, Basen- und Kaliumkonzentration wie auch des BSQ (Hörügel und Fürl 1998). Hierbei steht die NSBA in engem Zusammenhang mit der Kaliumkonzentration in Harn, da die Exkretion von Wasserstoffionen in Ausscheidungskonkurrenz zu Kalium steht (Fürl et al. 1994).

Durch die enge Beziehung von NSBA und dem Base Excess (BE) im Futter ist die NSBA auch zur Einschätzung der Gebärparesegefährdung bei Kühen in der Hochträchtigkeit geeignet (Moritz et al. 2014). Da eine alkalotische Stoffwechsellage *ante partum* als prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer Gebärparese gilt (Horst et al. 1992), sollte auch eine Erhöhung der NSBA in diesem Zeitraum für ein erhöhtes Gebärpareserisiko sprechen (Hörügel und Fürl 1998). In einer späteren Studie zeigte sich jedoch, dass die Tiere vermehrt festlegten, die *ante partum* eine erniedrigte NSBA aufwiesen (Hoops und Fürl 2004), was einen Widerspruch zu der bis dato geltenden Meinung darstellte.

## 2.7 Diagnose der Gebärparese

Die klinische Diagnose Hypokalzämie wird in der Regel anhand der klinischen Befunde, des zeitlichen Auftretens der Erkrankung nach dem Abkalben, dem aus der Anamnese bekannten Geburtsverlauf und dem Alter des Tieres gestellt und nachträglich durch das in vielen Fällen gute Ansprechen auf die Infusionstherapie mit Kalzium als *Diagnosis ex juvantibus* bestätigt (Khol et al. 2020). Neben der schlaffen Lähmung ist typischerweise ein unterschiedlich stark gestörtes Sensorium im Zeitraum von drei Tagen rund um die Geburt zu beobachten. Wenn die Kuh ein ungestörtes Sensorium zeigt und mit den Vorderextremitäten immer noch Aufstehversuche unternimmt, die Hinterhand aber nicht aufheben kann, wird dies häufig mit dem „hypophosphatämischen Festliegen“ assoziiert (Hofmann et al. 2005).

Durch die labordiagnostische Untersuchung von Kalzium (Ca) und anorganischem Phosphat (Pi) kann die klinische Diagnose der Hypokalzämie gesichert werden (Hofmann et al. 2005). Festliegende Kühe zeigen neben einer Hypokalzämie im Serum oft auch einen erniedrigten Gehalt an Phosphat und Magnesium (Gelfert et al. 2006). Dieser Umstand ist das Resultat der auf den Kalziummangel zurückzuführenden vermehrten PTH-Ausscheidung und der damit verbundenen erhöhten Phosphorexkretion sowie verminderten Magnesiumresorption (Grünberg 2014, Martin-Tereso und Martens 2014).

Auch die alkalische Phosphatase (AP) kann als Indikator für den Knochenstoffwechsel und damit die Mobilisierbarkeit von Kalzium herangezogen werden (Branca 1996). Eine deutlich geringere Aktivität dieser spricht bei einem Grenzwert von bis zu 200 U/l für ein erhöhtes Hypokalzämierisiko (Khol et al. 2020).

Der physiologische Gehalt an Gesamtkalzium beträgt bei einem Rind 2,2 – 2,6 mmol/l. Hier sei aber erwähnt, dass bei der Beurteilung des Gesamtkalziumspiegels immer der Totalproteingehalt berücksichtigt werden muss, da Schwankungen dessen auch zu Veränderungen des Gesamtkalziumgehaltes führen (Baumgartner et al. 2018b).

Zwischen dem Grad der Hypokalzämie und dem Symptom des Festliegens besteht keine sehr enge Korrelation. Ab einer Serumkalziumkonzentration von 1,25 mmol/l liegen die meisten Kühe fest, aber schon bei einem Gehalt von 1,75 mmol/l kann das Stehvermögen verloren gehen. Etwas deutlicher sind diese Beziehungen zwischen den klinischen Erscheinungen und der Konzentration des freien Kalziums (Martig 2002, Tab. 3). Da für die Bestimmung des ionisierten Kalziums jedoch spezielle Geräte benötigt werden, wird in der Routinediagnostik üblicherweise das Gesamtkalzium gemessen. Zwischen dem Gesamtkalzium und dem freien

Kalzium besteht eine enge, lineare Korrelation. Hier muss jedoch, wie zuvor erwähnt, auch auf den Totalproteingehalt geachtet werden (Martig 2002).

**Tab. 3:** Symptome der Gebärparese in Relation zur Kalziumkonzentration im Blut (Martig 2002)

<b>Ca<sup>1</sup>-Konzentration</b>	<b>Symptome</b>	<b>Beurteilung</b>
2,1 – 2,7 mmol/l	Keine	Physiologisch
2,0 – 1,75 mmol/l	Unspezifisch	Subklinische Gebärparese
1,74 – 1,26 mmol/l	Vermindertes Stehvermögen, unsicherer Gang, Schwierigkeiten bei Aufstehen und Hinlegen	Klinische Gebärparese
< 1,25 mmol/l	Vermindertes Allgemeinverhalten, Festliegen, kühle Körperoberfläche	Klinische Gebärparese
< 0,5 mmol/l	Koma, Exitus letalis	Endstadium

<sup>1</sup>Ca = Kalzium

Eine Hypokalzämie kann mit einigen Komplikationen einhergehen. Durch das erschwerte Niederlegen beziehungsweise Aufstehen kann es zu Verletzungen infolge von Ausrutschen oder Stürzen kommen (Rossow und Bolduan 1994). Beispiele hierfür wären Quetschungen und offene Verletzungen der Zitzen, Exkoriationen, Zerrung oder Zerreißen von Muskeln, insbesondere der Adduktoren oder des *Musculus gastrocnemius*, Gelenkluxationen oder Frakturen (Martig 2002). Wenn eine Kuh längere Zeit festliegt, können außerdem Druckschädigungen die Folge sein, welche sich als Hautnekrosen („Liegestellen“), Phlegmonen, Degeneration oder Nekrose der Gliedmaßenmuskulatur infolge einer druckbedingten Ischämie oder Nervenlähmung (*Nervus radialis, fibularis* oder *tibialis*) äußern (Martig 2002). Durch Regurgitation von Panseninhalt oder erzwungene orale Applikation von Arzneimitteln an ein komatöses Tier kann es auch zu einer Aspirationspneumonie kommen, welche eine besondere Gefahr darstellt, da sie nicht selten tödlich endet (Martig 2002).

Je nach Ausmaß der durch das Festliegen bedingten Muskelschäden und damit auch der Dauer des Festliegens kommt es zu geringgradiger bis mittelgradiger Aktivitätserhöhung der Creatininkinase (CK) und der Aspartat-Amino-Transferase (AST) (Martig 2002), die CK sinkt allerdings trotz Fortbestehens des Festliegens nach ein bis zwei Tagen wieder ab. Bei sehr

starken Muskelläsionen kann auch eine Myoglobinurie beobachtet werden (Rossow und Bolduan 1994). Bei der hämatologischen Untersuchung lassen sich keine spezifischen Veränderungen erkennen, als Folge von Stress kann es aber zu Neutrophilie, Lymphopenie und Eosinopenie kommen und durch die Beeinträchtigung der Wasseraufnahme auch nicht selten zu Hämokonzentration (Martig 2002). Bei ausgeprägteren Entzündungen kommt es zudem aufgrund der Wirkung von (Endo-)Toxinen zu Leukopenie, Hyperbilirubinämie und Hyperglykämie (Hofmann et al. 2005).

## **2.8 Therapie der Gebärparese**

Neben der Behandlung der Ursache und Wiederherstellung eines physiologischen Kalziumspiegels sind bei der Therapie von Milchfieber besonders die unterstützenden Pflege- und Kontrollmaßnahmen von großer Bedeutung (Martig 2002).

Für die Infusionstherapie werden Kalziumlösungen, bevorzugt organische Verbindungen wie Kalziumborogluconat verwendet, da dieses im Vergleich zum früher häufiger verwendeten Kalziumchlorid besser verträglich und auch bei paravenöser Gabe weniger gewebsschädigend ist (Goff 1999). Die Referenzdosis beträgt 15 – 20 mg Kalzium pro Kilogramm Körpergewicht (KGW), was einer Dosis von neun Gramm pro Kuh entspricht. Bei Gabe von höheren Dosen kommt es zu keiner Wirkungsverbesserung, es erhöht sich lediglich das Risiko toxischer Nebenwirkungen (Martig 2002). Die Infusionsgeschwindigkeit sollte 1 g pro Minute nicht überschreiten, ansonsten kann es zu Störungen der Herzrhythmicität kommen (Goff 1999). Daher sollte während der Infusion der Herzschlag mit dem Stethoskop überprüft werden, denn Kalzium bewirkt initial meist Bradykardie, gefolgt von Arrhythmien und Tachykardie mit Extrasystolen und kann im äußersten Fall zum Herzstillstand führen (Khol et al. 2020). In der Regel bewirkt die intravenöse Kalziuminfusion eine schnelle sichtbare Verbesserung der Symptome (Khol et al. 2020), auch die Hypophosphatämie, die als Folge der Nebenschilddrüsenstimulation zusätzlich zur Hyperkalzämie beobachtet werden kann, klingt nach der Infusion mit Kalzium spontan wieder ab (Martig 2002). Neben der intravenösen Gabe von Kalzium kann dieses auch intramuskulär oder subkutan verabreicht werden. Besonders die subkutane Applikation hat jedoch eine verlangsamte und schwer vorhersagbare Resorption zur Folge, da die Unterhaut aufgrund des schlechten Kreislaufzustandes meist vermindert durchblutet ist. Außerdem muss die Maximalmenge von 1 – 1,5 g Kalzium pro Injektionsstelle bei paravenöser Gabe berücksichtigt werden, da es ansonsten zu lokalen

Gewebsnekrosen kommen kann (Goff 1999). Die Kalziumapplikation erhöht, unabhängig von der Applikationsroute, die Kalziumkonzentration im Serum für vier bis fünf Stunden (Goff 1999). Dies dient zur zeitlichen Überbrückung bis die körpereigenen Regulationsmechanismen der Kalziumhomöostase der Kuh wieder greifen (Khol et al. 2020). Wird die Kalziuminfusion jedoch Tieren verabreicht, die diese Behandlung nicht unbedingt benötigen, löst das exogen zugeführte Kalzium eine Gegenreaktion aus, die sich in einem Abfall von PTH und einer verminderten Aktivierung von Calcitriol äußert. So kommt es zu Verzögerungen in der Adaption des Kalziummetabolismus und als Folge kann so eine Hypokalzämie induziert werden, sogar bei gesunden Tieren (Albright und Blosser 1957). Deshalb sollten intravenöse Kalziuminfusionen auch keine Standardprozedur bei der Abkalbung sein (Martin-Tereso und Martens 2014).

Die hauptsächlich vor der Einführung der Infusionstherapie praktizierte Methode der Euterinsufflation, bei der nach Desinfektion der Zitzenkuppe mit einem sterilen Melkkatheter und einer Handpumpe Luft in das Euterviertel gepumpt wird, ist aufgrund der heute etablierten sichereren Therapiemöglichkeiten als obsolet anzusehen (Khol et al. 2020, Martig 2002).

Entscheidende Bedeutung für den Therapieerfolg hat die Betreuung und Pflege der festliegenden Kühe. Ein Beispiel hierfür wäre das Umlagern, das mindestens vier Mal innerhalb von 24 Stunden erfolgen sollte. Wichtig ist in diesem Fall, dass trockenes Stroh als Untergrund und darunter eine rutschfeste Unterlage vorliegt, die der Kuh das Aufstehen erleichtert. Auch im Kopfbereich muss genügend Bewegungsfreiheit für den Aufstehvorgang vorhanden sein und die Hinterbeine sollten oberhalb der Fesselgelenke in einem Abstand von 30 cm gefesselt sein, um ein Vergrätschen bei den Aufstehversuchen zu vermeiden (Martig 2002). Zusätzlich sollte dem festliegenden Tier gut strukturiertes, gehaltvolles Futter angeboten werden, das den Appetit anregt und die Vormagentätigkeit stimuliert. Zu bedenken ist weiters, dass die Selbsttränke von der festliegenden Kuh oft nicht erreicht werden kann. Aus diesem Grund ist mehrmals täglich Wasser aus einem Kübel anzubieten. Sollten die Tiere trotz mehrerer Behandlungen weiter festliegen, müssen neben Hypokalzämie andere Ursachen in Betracht gezogen werden (Martig 2002).

An Hypokalzämie leidende Rinder haben hinsichtlich Überleben, Heilung und Leistung eine gute Prognose, wenn keine Verletzungen oder sekundäre Komplikationen vorliegen (Khol et al. 2020), dennoch sprechen 5 – 10 % der Kühe nicht auf die Behandlung an (Martig 2002). Bei der hypophosphatämischen Form der Gebärparese hingegen ist der Erfolg der

Behandlung von vorneherein nicht sicher (Hofmann et al. 2005). Bei Vorliegen anderer Ursachen, dem Downer cow syndrome, hängt die Prognose von der Art der Störung ab. Bei Nervenquetschungen, Muskelrupturen, fortschreitenden Gewebnekrosen und Frakturen ist die Prognose in der Regel infaust (Hofmann et al. 2005).

## **2.9 Prophylaxe der Gebärpause**

Zu den gängigsten Vorkehrungen im Zuge einer Hypokalzämieprophylaxe gehören kalzium- und kaliumarme Fütterung (Maissilagen, keine Kleesilagen, Gülledüngung reduzieren) und phosphor- und magnesiumreiche Fütterung während der Trockenstehzeit (Mahlkow-Nerge 2008). Die Höhe der Kaliumversorgung in den letzten zwei bis drei Wochen vor der Geburt hat wohl den größten Einfluss auf die Mobilisierungsprozesse von Kalzium (Mahlkow-Nerge 2008). Hierbei wird das Risiko einer Milchfiebererkrankung durch Kaliumgehalte von mehr als 15 g/kg Trockenmasse (TM) in der Ration während der Anfütterung erhöht. Besonders grasreiche Rationen bergen ein Milchfieberisiko in sich, da sie sehr kaliumreich sind und deswegen auch eine hohe Kationen-Anionen-Bilanz aufweisen, was bei der Transitkuh zu einem alkalotischen Zustand und, wie oben erläutert, damit einer erhöhten Gebärpausegefahr führt (Mahlkow-Nerge 2008). Umgekehrt sind die meisten Rationen für Transitzühe für Tiere nach der Kalbung zu energie- und nährstoffarm und behindern somit eine möglichst schnell ansteigende Futteraufnahme in der Frühaktation. Aus diesen Gründen sollten Tiere vor der Kalbung von denen nach der Kalbung getrennt gefüttert werden (Mahlkow-Nerge 2008).

Im Folgenden werden einige bekannte Prophylaxemethoden genauer beschrieben:

### **Vitamin-D-Supplementierung**

Vitamin D kann als exogenes Calcitriol-Signal fungieren und so die Kalziumkonzentration im Serum beeinflussen, indem die intestinale Kalziumabsorption erhöht wird und die renale Reabsorption von Kalzium, sowie die Kalziummobilisierung aus dem Knochen, gesteigert werden (Baum et al. 2010, Gast et al. 1979). Nachteil hierbei ist, dass das exogen zugeführte Vitamin D auch Gegenreaktionen hervorrufen kann. So kommt es zwar zu einer Erhöhung des Kalziumspiegels, aber gleichzeitig zu einer Unterdrückung von PTH, was wiederum zu renaler Kalziumausscheidung führt (Hove et al. 1983). Gleichzeitig kann Vitamin D auch Weichteilkalzifikationen, eine sogenannte Kalzinose, auslösen (Littledike und Horst 1982). Somit profitieren Kühe nur von exogen zugeführtem Vitamin D, wenn es zum richtigen

Zeitpunkt in Relation zur Abkalbung eingesetzt wird, da die negativen Rückkopplungsmechanismen, besonders die Hemmung der Eigensynthese durch das Vitamin-D-Hormon selbst, den Effekt zeitlich begrenzen. Hierbei wird empfohlen, 10.000 IE Vitamin D pro Tag über das Futter zu verabreichen, das entspricht 0,25 mg. Eine zusätzliche Gabe von 15 mg (= 600.000 IE) Calcidiol pro Tag im Zeitraum von drei bis unter zehn Tagen vor dem Abkalbetermin kann die Kalziummobilisation zum Zeitpunkt der Geburt verbessern. Höhere Dosen und längere Gaben verschlechtern die Fähigkeiten der Tiere, Kalzium zu mobilisieren (Baum et al. 2010).

### **Orale Kalziumapplikationen**

In vielen landwirtschaftlichen Betrieben ist die Gabe einer hoch an Kalzium dosierten Lösung oder Suspension, zum Beispiel mittels Drench, eine standardisierte Prozedur im Management von Kalbungen. Die so erhöhte Menge an Kalzium im Magen-Darm-Trakt bewirkt, dass die Menge an absorbierbarem Kalzium insgesamt erhöht wird, was besonders in Kombination mit der richtigen Fütterung positive Auswirkungen auf die Aktivierung der Kalziumabsorption hat (Martin-Tereso und Martens 2014). Zusätzlich erlaubt die höhere Verfügbarkeit von Kalzium auch einen passiven Kalziumeinstrom, der direkt zur Erhaltung der Kalziumkonzentration im Blut beiträgt. Im Gegensatz zu der intravenösen Gabe von Kalzium ist es hier unwahrscheinlich, dass es zu einer Verzögerung der Regulation kommt (Martin-Tereso und Martens 2014). Empfohlen sind hierbei 50 g Kalziumchlorid pro Tier, da in Versuchen die Kalzium-Plasmakonzentration so am stärksten erhöht werden konnte. Innerhalb von 24 Stunden *ante* und *post partum* sollten maximal vier Gaben erfolgen (Baum et al. 2010). Nachteil dieser Methode ist, dass diese zeit- und arbeitsaufwändig ist und der Geburtstermin genau bekannt sein muss. Jede Zwangapplikation stellt außerdem einen erheblichen Stressfaktor für das Tier dar und auch hier sind die Gefahr des Fehlschluckens und einer Aspirationspneumonie, wie auch eine Schädigung der Vormagenschleimhaut nicht auszuschließen (Kümper 1992). Deshalb ist diese Prophylaxemethode nur bei Einzeltieren mit bekanntem erhöhtem Erkrankungsrisiko empfehlenswert (Baum et al. 2010).

### **Kalziumarme Fütterung**

Bei einem hohen Kalziumanteil im Futter am Ende der Trockenstehzeit, deckt die Kuh ihren Kalziumbedarf fast ausschließlich durch das passiv resorbierte Kalzium. Wegen des folgend hohen Kalziumgehalts im Plasma wird die Sekretion von PTH und auch von Calcitonin unterdrückt und, da die aktive Kalziumresorption an die Wirkung dieser Stoffwechselformone

gebunden ist, wird diese somit nicht beansprucht und steht bei erhöhtem Kalziumbedarf nach der Geburt nicht unmittelbar zur Verfügung (Martig 2002).

Durch eine Reduzierung des Kalziumgehalts im Futter in der Trockenstehzeit kann der Gebärfähigkeit vorgebeugt werden (Goings et al. 1974), da so die PTH-Sekretion und Vitamin-D-Synthese stimuliert werden (Baum et al. 2010). Dies gilt besonders dann, wenn die Kalziumaufnahme pro Tag nur 20 Gramm beträgt (Thilsing-Hansen et al. 2002b). Maissilagen und Heu sind relativ kalziumarm und Stroh vermindert zusätzlich die Trockenmasseaufnahme. Vermeiden sollte man grüne Futtermittel wie Kleesilagen, da diese kalziumreich sind (Martin-Tereso und Martens 2014). Mit den üblichen Futtermitteln ist der erwünschte Kalziumgehalt von 20 g jedoch nur schwer oder gar nicht zu erreichen, weswegen es hierfür Kalziumbinder als Hilfsmittel eingesetzt werden können. Ein bis zwei Tage vor der Abkalbung sollte dennoch wieder auf kalziumreiches Mineralfutter umgestellt werden, um die Kuh optimal zu unterstützen (Baum et al. 2010).

### **Kalziumantagonisten in der Ernährung**

Da ein Kalziumgehalt von 20 – 25 g pro Tag im Zuge der Fütterung nur schwer bis gar nicht zu erreichen ist, wurden kalziumbindende Substanzen als eine weitere Möglichkeit der Gebärfähigkeitseprophylaxe entwickelt. Am besten untersucht ist hierbei Zeolith A (Natriumaluminiumsilikat). Da Zeolith Kalzium bindet, wird dadurch der Kalziumgehalt der Ration verringert, was bei den Tieren aufgrund des negativen Kalziumhaushalts zu einem erhöhten Gehalt von PTH und damit Calcitriol führt. Aber nicht nur Kalzium wird durch das Silikat gebunden, sondern auch Magnesium und Phosphor. Besonders Phosphor ist hier hervorzuheben, da auch Hypophosphatämie die Wirkung von Calcitriol erhöht und somit zu einer vermehrten intestinalen Kalziumabsorption beiträgt (Thilsing-Hansen et al. 2002a).

Zeolith kann zwar zu einer Verminderung der Futteraufnahme führen, in einer Dosierung von 23 g/kg TM pro Tag reduziert Zeolith jedoch die Häufigkeit von subklinischer Hypokalzämie ohne einen signifikanten Effekt auf die Futteraufnahme und Phosphatkonzentration im Serum zu haben (Grabherr et al. 2009). Das Verhältnis von Zeolith und Kalzium sollte in der Ration hierbei zwischen sechs und zehn liegen, ist es bei fünf oder weniger, zeigt Zeolith keine Wirkung mehr (Baum et al. 2010).

### **Reduktion der Kationen-Anionen-Differenz**

Eine weitere Maßnahme zur Prophylaxe von Hypokalzämie ist, durch Modifizierung der Kationen-Anionen-Differenz des Futters (DCAD) mittels einer sogenannten „Anionenration“ eine gemäßigte metabolische Azidose zu induzieren. Dies wird entweder durch die Reduktion von Kalium in der Ration, oder durch die Verfütterung anionischer oder saurer Salze wie Schwefel oder Chlorid erreicht (Block 1984). Der Optimalbereich der DCAD in der Trockenstehperiode ist hierbei mit -100 bis -150 meq/kg TM angegeben (Fürl et al. 1996).

Eine niedrige DCAD in der Vorbereitungsfütterung beugt eine Milchfieber-Erkrankung vor, da dadurch die Calcitriol-Antwort beschleunigt wird (Goff et al. 1991). Eine hohe DCAD hingegen, die ihre Ursache meist im hohen Kaliumgehalt des Futters hat, kann Hypokalzämie begünstigen (Martin-Tereso und Martens 2014). Durch einen hohen Gehalt an Kalium im Futter kann es zu einer metabolischen Alkalose kommen. Dies beeinflusst den Kalziummetabolismus nachteilig, da die PTH-Antwort gehemmt wird (Horst et al. 1994).

Der durch die metabolische Azidose gesenkte pH-Wert im Harn bewirkt eine verminderte Kalzium-Rückresorption in den Nierentubuli (Schonewille et al. 1994) und eine Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen, was zu einem erhöhten Kalziumgehalt im Urin führt (DeGaris und Lean 2008). Durch die so ausgelöste Verstärkung des Calcitriolsignals wird die intestinale Kalziumabsorption aktiviert (DeGaris und Lean 2008). Von der durch saure Salze ausgelösten Hyperkalziurie wird angenommen, dass dadurch ein ausreichendes Kalziumdefizit erreicht wird, um Kalziumabsorption auszulösen (Martín-Tereso und Verstegen 2011).

Von den sauren Salzen wurde festgestellt, dass Kalziumsalze stärker wirken als Magnesiumsalze. Hierbei sind jedoch auch die sensorischen Eigenschaften zu beachten. Chloride werden beispielsweise aufgrund ihres schlechten Geschmackes weniger gut aufgenommen und haben zusätzlich ätzende Eigenschaften. Ammoniumsalze wiederum entwickeln nach Kontakt mit Wasser einen unangenehmen Geruch. Deswegen empfiehlt sich Kalziumsulfat, da es geschmacksneutral ist und einen guten Säuerungsgrad aufweist. Jedoch gibt es auf dieses Salz große Unterschiede in der individuellen Reaktion der Tiere. Anionenrationen sollten für mindestens zwei Wochen eingesetzt und mit der Kalbung wieder abgesetzt werden. Wegen der erhöhten Kalziumverluste über den Urin sollte der Kalziumgehalt in der Ration 10 g/kg TM betragen (Baum et al. 2010). Zusätzlich muss der Kaliumgehalt angepasst werden, da eine metabolische Azidose nur mit kaliumarmer Fütterung erreicht werden kann. Die Tiere müssen außerdem engmaschig bei der Futteraufnahme

beobachtet werden, um den Erfolg der Ration zu kontrollieren. Stellen die Tiere die Futteraufnahme ein, hat die Ration entweder einen zu starken Beigeschmack oder die ausgelöste Azidose ist zu stark. Neben diesen hohen Anforderungen an das Fütterungsmanagement erfordert die Nutzung saurer Salze also ein umfangreiches Fachwissen (Baum et al. 2010).

Zur Erfolgskontrolle sollte neben der Fütterungsbeobachtung auch der pH-Wert im Urin gemessen werden. Denn wenn moderate Mengen anionischer Salze nicht zu einem erniedrigten pH-Wert im Harn führen, wirken sie auch nicht prophylaktisch hinsichtlich einer Milchfiebererkrankung (Martin-Tereso und Martens 2014).

### **Körperkondition**

Im Rahmen der Gebärdpareseprophylaxe ist auch die Körperkondition ein wichtiger Faktor. Verfettete Kühe (BCS > 4) fressen, oft auch aufgrund von Begleiterkrankungen wie Ketose oder Hepatolipidose, weniger und haben einen höheren Kalziumverbrauch im Stoffwechsel (Staufenbiel 1999). Zur Kalbung sollte der BCS zwischen 3,25 und 3,75 liegen (Baum et al. 2010), die Idealwerte für die Rückenfettdicke reichen in der Literatur von 20 mm (Staufenbiel 1997) bis 35 mm (Zimmer 2006).

### **Magnesium als Risikofaktor**

Hier sei auch noch kurz der Einfluss von Magnesium auf eine Hypokalzämie-Erkrankung erwähnt. Hypomagnesämie beeinträchtigt die Ausschüttung von PTH nachteilig (Anast et al. 1972). Physiologischerweise bindet PTH an seinen Rezeptor und durch die Aktivierung der Adenylatcyclase werden cAMP und Phospholipase C gebildet, die für die nachfolgenden Schritte der PTH-Antwort notwendig sind. Jedoch benötigen diese beiden Second Messenger Magnesium für ihre uneingeschränkte Aktivität (Goff und Horst 2003). Infolgedessen vermindert ein Mangel an Magnesium die Mobilisationskapazität von Kalzium aus dem Knochen und erhöht das Risiko einer Hypokalzämie (Martin-Tereso und Martens 2014). Dementsprechend sollte auch eine ausreichende Magnesiumversorgung Teil einer guten Milchfieberprophylaxe sein. Hierbei reicht bei niedrigen Kaliumgehalten in der Fütterung ( $\leq 15$  g/kg TM) ein Magnesiumgehalt von 2 g/kg TM aus, bei höheren Kaliumgehalten sollte das Magnesium auf das Doppelte (4 g/kg TM) angehoben werden (Baum et al. 2010).

**Die Hypokalzämieprophylaxe zusammengefasst**

Die Milchfieberprophylaxe erfordert unterschiedliche Herangehensweisen, auf die in der Vorbereitungsfütterung geachtet werden sollte. Die zwei effektivsten Strategien zur Prävention von Hypokalzämie in der Fütterung von Trockenstehern sind die Limitierung der Kalziumverfügbarkeit und die Induktion von Hyperkalziurie im Harn. Intravenöse Infusionen von Kalzium sollten nur bei schweren klinischen Fällen angewendet werden und stellen somit keine prophylaktische Maßnahme dar. Auch die orale Kalziumzufuhr um den Geburtszeitpunkt sollte nur ergänzend sein und ist kein Ersatz einer gut durchdachten Fütterung vor der Abkalbung (Martin-Tereso und Martens 2014).

### **3 Tiere, Material und Methoden**

Für die Untersuchungen wurden aus dem Kundenstock der Tierarztpraxis Jaklitsch in Sankt Oswald, Niederösterreich, die Milchviehbetriebe ausgewählt, die in den letzten zwei Jahren die höchste Inzidenz an Gebärparesefällen aufwiesen. Beprobte wurden ausschließlich Kühe der Rasse Fleckvieh. Da es sich um eine Pilotstudie handelt, konnte die exakt benötigte Anzahl an Tieren im Vorhinein statistisch nicht ermittelt werden. Für die Untersuchung kamen alle Tiere ab der zweiten Laktation in Betracht, Tiere in der ersten Trächtigkeit wurden aufgrund des deutlich geringeren Gebärpareserisikos nicht in die Studie aufgenommen. Um den Anteil von Kühen mit Hypokalzämie möglichst zu erhöhen, konzentrierte sich die Probennahme auf Tiere mit hoher Milchleistung und einem Alter von über sechs Jahren. Bei Untersuchungsbeginn durften ausgewählte Tiere weiters keine Symptome einer klinischen Erkrankung aufweisen und keine Prophylaxe oder Therapie im Zusammenhang mit Hypokalzämie eingesetzt worden sein. Außerdem wurde angestrebt, für jede Kuh mit Hypokalzämie eine ohne Hypokalzämie aus demselben Betrieb zu untersuchen, um den Einfluss von Fütterung und Haltung möglichst gering zu halten. Die Studienpopulation bestand aus 24 Tieren.

Die Studie wurde vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung gemäß §26 Tierversuchsgesetz 2012 (TVG 2012) BGBl. I Nr. 114/2012, idF BGBl. I Nr. 31/2018 genehmigt (GZ BMWFW-68.205/0141-WF/V/3b/2017) und von Hochschuljubiläumsfonds der Stadt Wien finanziell unterstützt.

Um den zeitlichen Verlauf der FGF-23-Konzentration im Blut in Verbindung mit der NSBA im Harn um die Geburt darstellen zu können, wurden 14 und 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin, sowie am Tag der Geburt und den vier darauffolgenden Tagen, Blut- und Harnproben genommen (Tab. 4).

**Tab. 4:** Zeitpunkt der Untersuchung, Medium und durchgeführte Analysen

Zeitpunkt	Medium	Analysen
14 Tage <i>ante partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> <sup>1</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> , AG <sup>3</sup> , tCO <sub>2</sub> <sup>4</sup> , BE <sup>5</sup> , Na <sup>+6</sup> , K <sup>+7</sup> , Cl <sup>-8</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca <sup>9</sup> , P <sup>10</sup> , Mg <sup>11</sup> , Crea <sup>12</sup>
7 Tage <i>ante partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea
Tag der Kalbung	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea
24 Stunden <i>post partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea
48 Stunden <i>post partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea
72 Stunden <i>post partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea
96 Stunden <i>post partum</i>	18 ml Blut, venös 1,3 ml Blut, venös 50 ml Harn 1 ml Harn	pH, pCO <sub>2</sub> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , AG, tCO <sub>2</sub> , BE, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> Blutgasanalyse NSBA Ca, P, Mg, Crea

<sup>1</sup>Kohlendioxidpartialdruck; <sup>2</sup>Bicarbonat; <sup>3</sup>Anionenlücke; <sup>4</sup>Gesamtkohlendioxid; <sup>5</sup>Base Excess; <sup>6</sup>Natrium; <sup>7</sup>Kalium; <sup>8</sup>Chlorid; <sup>9</sup>Kalzium; <sup>10</sup>Phosphor; <sup>11</sup>Magnesium; <sup>12</sup>Kreatinin

Im Zuge der Blutabnahme wurden aus der *Vena jugularis*, wie von Baumgartner et al. (2018b) beschrieben, mittels zwei 9 ml Monovetten (Referenznummer 02 263, Sarstedt, Nümbrecht) Blut aspiriert, zusätzlich wurde ein 1,3 ml Lithium-Heparin Microtube (Ref. 41 1393 005, Sarstedt, Nümbrecht) für die spätere Blutgasanalyse verwendet. Anschließend wurden die Monovetten 10 Minuten bei 4000 U/l, das entspricht 758 g, zentrifugiert, das Serum abpipettiert, jeweils 1 ml in vier 2 ml Eppendorf Safe-Lock Tube (Nummer 30120094, Eppendorf, Hamburg) aliquotiert, bei -20 °C eingefroren und bis zur Analyse gelagert. Die Blutgasanalyse wurde unverzüglich nach Probenentnahme mit dem VetStat Elektrolyt- und Blutgasanalysegerät (IDEXX®, Westbrook, USA) durchgeführt. Die Bestimmung der Ca- und FGF-23-Konzentration im Blut wurde vom Institut für Physiologie, Pathophysiologie und Biophysik des Departments für Biomedizinische Wissenschaften der Veterinärmedizinischen Universität Wien mit dem Cobas C111 Autoanalyser (Roche, Rotkreuz, Schweiz) und mittels einer Enzyme-linked-Immunosorbant-Assay-Analyse (ELISA) durchgeführt und die Ergebnisse zur Verfügung gestellt.

Die Harnprobenentnahme erfolgte, wie von Baumgartner et al. (2018a) beschrieben, mittels Harnkatheter (Plastik-Behandlungspipette 6 x 450 mm (Nr. 1002), Egon Müller, Nürnberg) und wurde für die NSBA-Analyse direkt in verschließbare 50 ml Zentrifugenröhrchen (Nr. 525-0156, VWR, USA) gefüllt und ebenfalls bei -20 °C tiefgefroren. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Röhrchen vollständig mit Harn gefüllt, luftdicht verschlossen und möglichst rasch tiefgefroren wurden. Für die Analyse des Kalzium-, Phosphor-, Magnesium- und Kreatiningehalts wurden zusätzlich jeweils 1 ml Harn in einem Eppendorf Tube (Nummer 30120094, Eppendorf, Hamburg) separat tiefgefroren. Bei manchen Tieren kam durch das Einführen des Katheters zu spontanem Harnabsatz, wodurch auch Harn am Katheter vorbei in das Probengefäß lief. Bei anderen musste *ante partum* die Harnblase etwas aufgeblasen werden, um einen reflektorischen Harnabsatz zu stimulieren, wobei ebenso Harn am Katheter vorbeilief. In einzelnen Fällen kam es dadurch zur Vermischung von Harn und Lochialsekret, dies wurde im Protokoll vermerkt.

Die Bestimmung der NSBA mittels fraktionierter Titration (Kutas 1965) erfolgte an der Universitätsklinik für Wiederkäuer der Veterinärmedizinischen Universität Wien. Die

Durchführung kann aus Tab. 5 entnommen werden. Dabei wurde jede Probe doppelt analysiert und der Mittelwert beider Analysen für die statistische Auswertung herangezogen.

**Tab. 5:** Durchführung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung nach Kutas (1965)

Durchführung	Berechnung
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 ml Harn gut schütteln</li> <li>• Mit 1 n HCl<sup>1</sup> auf pH 3,5 titrieren</li> <li>• Harn für 30 Sekunden erhitzen</li> <li>• Harn abkühlen</li> <li>• Mit 0,1 n NaOH<sup>2</sup> auf pH 7,4 titrieren</li> <li>• 10 ml 20 % Formaldehyd hinzugeben</li> <li>• Erneut mit 0,1 n NaOH auf pH 7,4 titrieren</li> </ul>	Basen (mmol/l) = $V_{HCl}^3 \times 100$ Säuren (mmol/l) = $V_{NaOH1}^4 \times 10$ $NH_4^5$ (mmol/l) = $V_{NaOH2}^6 \times 10$ $BSQ^7$ = Basen / Säuren $NSBA^8$ (mmol/l) = $[(V_{HCl} \times 10) - (V_{NaOH1} + V_{NaOH2})] \times 10$

<sup>1</sup> Salzsäure; <sup>2</sup> Natriumbicarbonat; <sup>3</sup> Volumen HCl; <sup>4</sup> Volumen NaOH vor Formaldehydzugabe; <sup>5</sup> Ammonium; <sup>6</sup> Volumen NaOH nach Formaldehydzugabe; <sup>7</sup> Basen-Säuren-Quotient; <sup>8</sup> Netto-Säure-Basen-Ausscheidung

### 3.1 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels SPSS Statistics (IBM Corporation, Armonk, USA) und Microsoft Excel für Windows (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Zur Beurteilung einer möglichen Assoziation zwischen den Messparametern wurde eine Korrelationsmatrix berechnet. Insgesamt wurden 24 Tiere untersucht und sowohl das klinische Symptom des Festliegens als auch, basierend auf Informationen aus der Literatur, ein Kalzium-Grenzwert von  $< 2$  mmol/l (Goff 2008) als Hypokalzämie definiert. Somit konnten für die Auswertung dieser Studie subklinisch und klinisch erkrankte Tiere voneinander differenziert werden. Als normokalzämisch wurden klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von  $> 2$  mmol/l bezeichnet, klinisch hypokalzämische Tiere waren als festliegende Tiere definiert und als subklinische Tiere wurden klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von  $< 2$  mmol/l bezeichnet.

Zur Beurteilung der Korrelation von NSBA, FGF-23 und Kalzium wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman bzw. Pearson berechnet und  $p < 0,05$  als signifikant gewertet. Zur Bestimmung der Signifikanz der Unterschiede zwischen den Parametern wurden die NSBA-, FGF-23- und Ca-Werte logarithmiert und eine ANOVA mit Messwiederholung und

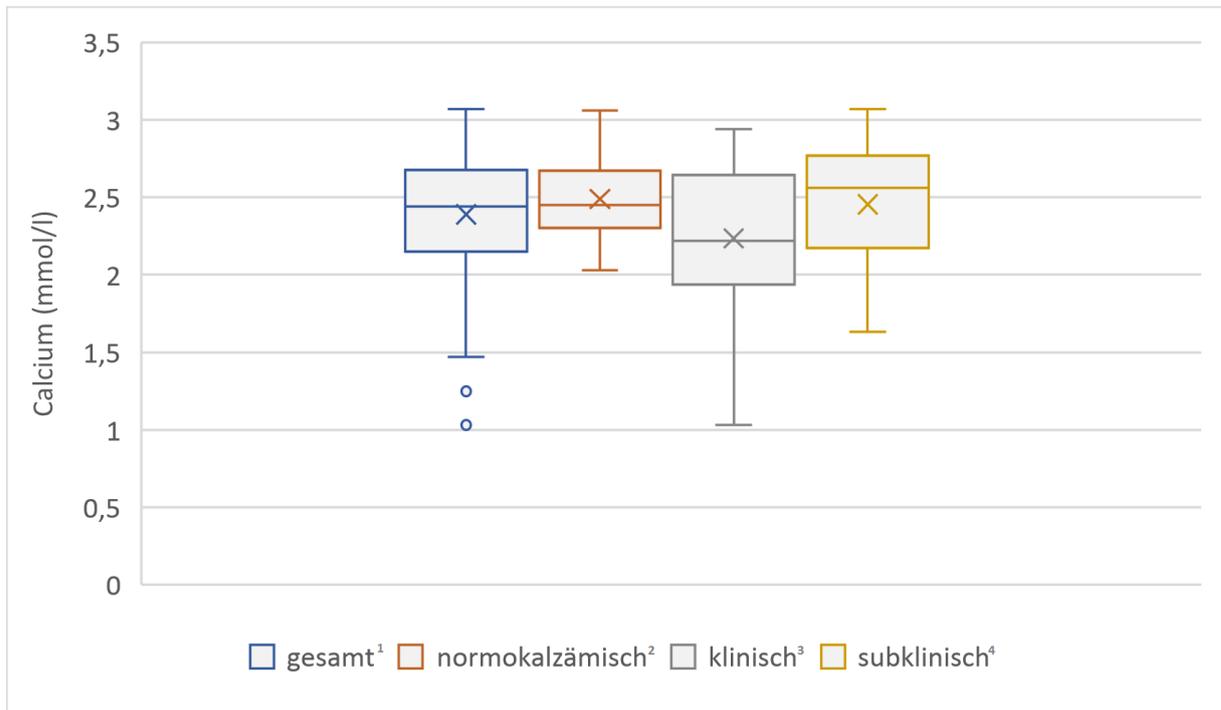
Bonferroni-korrigiertem-posthoc-Test berechnet. Zum Vergleich der Gruppen normokalzämische, klinische und subklinische Tiere wurde für die NSBA ein t-Test für unabhängige Stichproben inklusive Levene-Test zur Prüfung der Varianzgleichheit der Proben durchgeführt. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung wurde für die FGF-23-Werte ein Mann-Whitney-U-Test berechnet. Außerdem wurde eine receiver operating characteristics (ROC) Analyse durchgeführt, um Grenzwerte für die FGF-23-Konzentration *ante partum* als Vorhersagewert für das Auftreten einer Hypokalzämie nach der Geburt berechnen zu können. Mittels Berechnung der logistischen Regression wurde versucht, die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Hypokalzämie durch die gemessenen Parameter vorherzusagen. Als Hypokalzämie wurde der Tag des Auftretens der klinischen Gebärparese und/oder ein Kalzium-Wert von  $< 2$  mmol/l definiert.

#### 4 Ergebnisse

Im Zuge der vorliegenden Studie wurden insgesamt 24 Tiere beprobt, wobei 15 Tiere (62,5 %) eine Hypokalzämie aufwiesen. Davon lagen neun Tiere (37,5 %) fest, zeigten also die klinische Form der Gebärparese, und sechs Tiere (25 %) waren mit einem Ca-Gehalt von  $< 2$  mmol/l subklinisch an Hypokalzämie erkrankt. Der Altersrahmen der beprobten Tiere lag bei 4,2 – 11,8 Jahren, der Median des Alters der Kühe mit einem physiologischen Ca-Gehalt lag bei 7,3 Jahren (4,3 – 11,8 Jahre), jener der klinisch hypokalzämischen betrug 6,3 Jahre (4,2 – 9,5 Jahre) und der der subklinischen Tiere 5,2 (4,3 – 9,9). Am häufigsten traten die klinischen und subklinischen Fälle von Hypokalzämie mit neun Fällen (60 %) am Tag der Geburt auf, zwei Fälle (33,3 %) ereigneten sich einen Tag *post partum* und ein Fall (6,7 %) wurde am zweiten Tag *post partum* beobachtet. Im Gruppenvergleich traten sechs der klinischen Fälle (66,7 %) *sub partu* auf, zwei Fälle (22,2 %) einen Tag p.p. und ein Fall (11,1 %) zwei Tage nach der Geburt. Bei den subklinischen Fällen ereigneten sich jeweils drei (50 %) am Tag der Geburt und ebenso viele einen Tag *post partum*.

Der mittlere Kalziumgehalt des Blutes betrug über alle Messzeitpunkte 2,39 mmol/l, der Median lag bei 2,44 mmol/l mit einem Maximalwert von 3,07 mmol/l und einem Minimalwert von 1,03 mmol/l. Das erste Quartil lag bei 2,15 mmol/l, das dritte Quartil bei 2,67 mmol/l. Im Gruppenvergleich war bei den normokalzämischen Tieren der Kalziumdurchschnittswert bei 2,49 mmol/l zu finden und der Median lag bei 2,45 mmol/l, mit einem Maximum von 3,06 mmol/l und einem Minimum von 2,03 mmol/l. Der Kalziummittelwert der klinisch erkrankten Tiere betrug 2,23 mmol/l, der Median 2,22 mmol/l, der Maximalwert war bei 2,94 mmol/l und der Minimalwert bei 1,03 mmol/l zu finden. Bei den subklinisch hypokalzämischen Tieren lag der Mittelwert der Blutkalziumkonzentration bei 2,45 mmol/l und der Median bei 2,56 mmol/l, mit einem Maximum von 3,07 mmol/l und einem Minimum von 1,63 mmol/l (Abb. 1).

Die detaillierten Kalziumwerte zum Zeitpunkt des Auftretens von Hypokalzämie sind in Tab. 6 angeführt.



**Abb. 1:** Darstellung der Blutkalziumkonzentration im Gruppenvergleich

<sup>1</sup>Gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24); <sup>2</sup>normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>3</sup>klinisch = festliegende Tiere (n = 9);

<sup>4</sup>subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6)

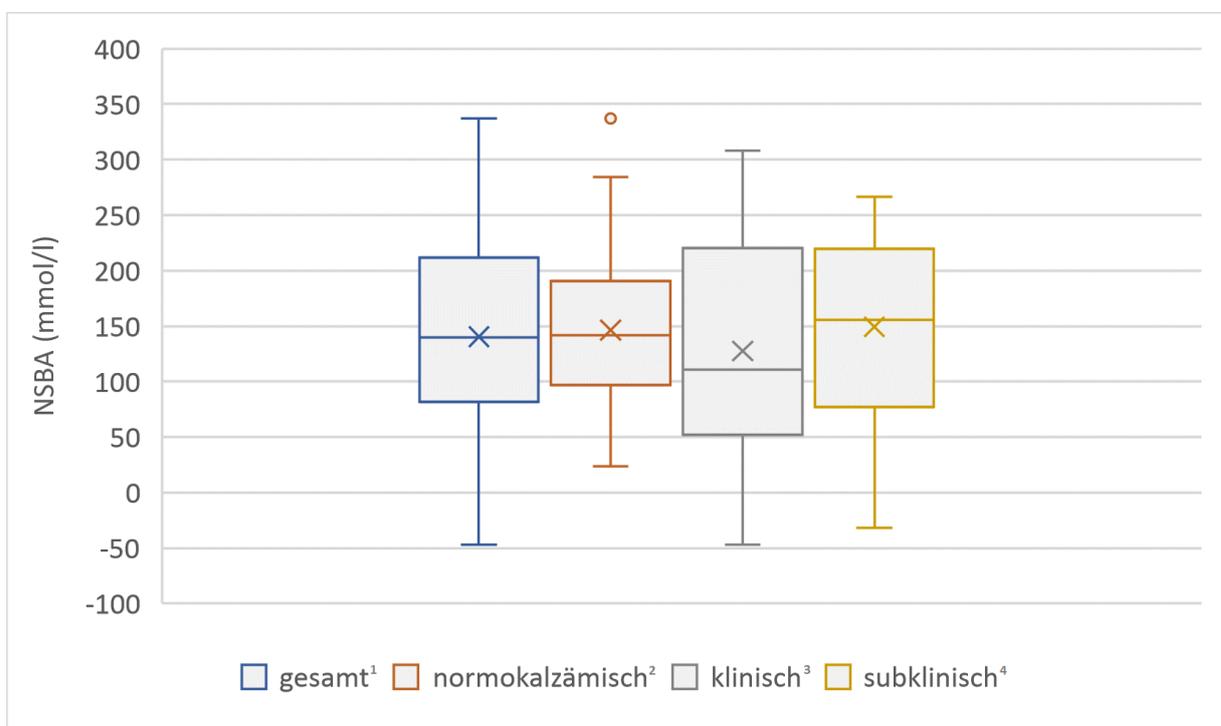
**Tab. 6:** Zeitpunkt des Auftretens von klinischer und subklinischer Hypokalzämie bei den Einzeltieren mit zugehörigen Blutkalziumwerten

	Nummer	Auftreten von Hypokalzämie (Zeitpunkt)	Ca <sup>1</sup> (mmol/l)
Klinische <sup>2</sup> Tiere	K <sup>4</sup> 1	Tag der Geburt	2,04
	K2	1 Tag <i>post partum</i>	1,25
	K3	Tag der Geburt	1,85
	K4	Tag der Geburt	1,70
	K5	2 Tage <i>post partum</i>	1,03
	K6	Tag der Geburt	1,61
	K7	Tag der Geburt	1,96
	K8	Tag der Geburt	1,61
	K9	1 Tag <i>post partum</i>	2,22

Subklinische <sup>3</sup> Tiere	S <sup>5</sup> 1	1 Tag <i>post partum</i>	1,99
	S2	Tag der Geburt	1,70
	S3	Tag der Geburt	1,71
	S4	Tag der Geburt	1,79
	S5	1 Tag <i>post partum</i>	1,63
	S6	1 Tag <i>post partum</i>	1,87

<sup>1</sup>Ca = Blutkalziumkonzentration; <sup>2</sup>klinische Tiere = festliegende Tiere (n = 9); <sup>3</sup>subklinische Tiere = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6); <sup>4</sup>K = klinische Tiere mit fortlaufender Nummer; <sup>5</sup>S = subklinische Tiere mit fortlaufender Nummer

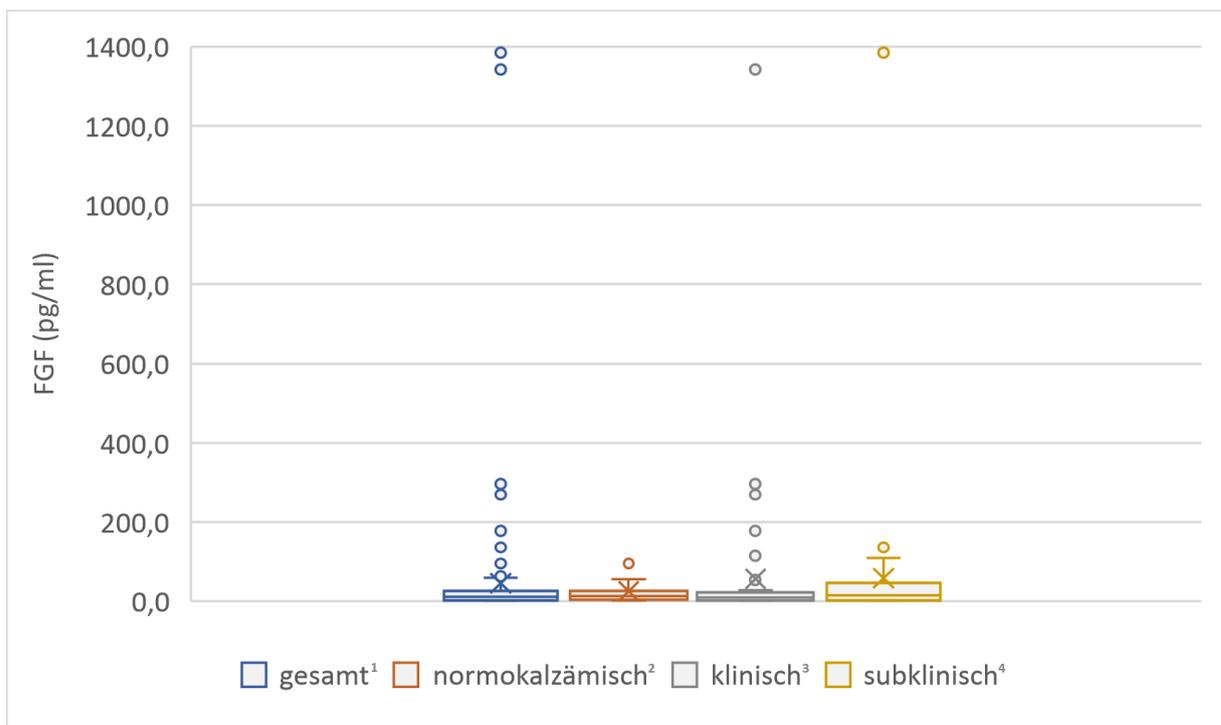
Der Mittelwert der NSBA lag über alle Messzeitpunkte bei 140,5 mmol/l, der Median bei 149 mmol/l, das erste Quartil bei 82 mmol/l und das dritte Quartil bei 211 mmol/l. Der Minimalwert betrug -47 mmol/l und der Maximalwert 337 mmol/l. Bei den normokalzämischen Tieren lag der Durchschnittswert bei 146,4 mmol/l und der Median bei 142 mmol/l. Bei den klinisch erkrankten Tieren betrug der Mittelwert 127,7 mmol/l, der Median 111 mmol/l und bei den subklinischen Tieren lag der Durchschnittswert bei 149,3 mmol/l und der Median bei 155,5 mmol/l (Abb. 2).



**Abb. 2:** Darstellung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA) im Gruppenvergleich

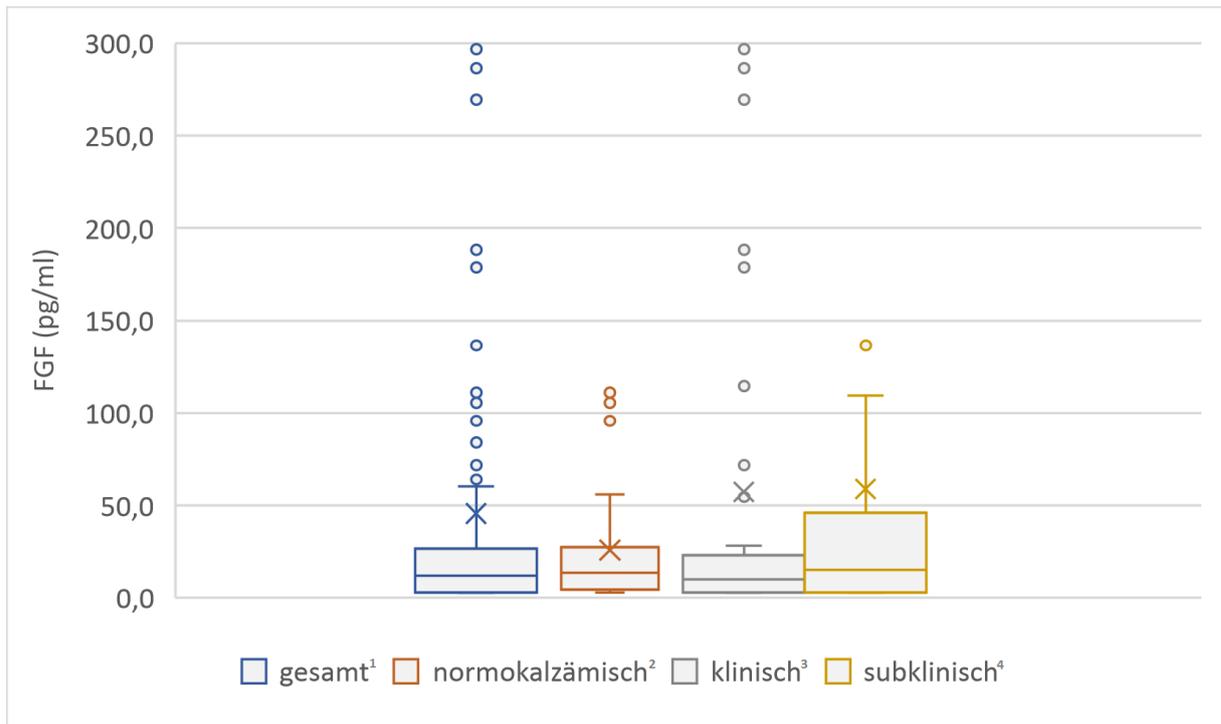
<sup>1</sup>Gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24); <sup>2</sup>normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>3</sup>klinisch = festliegende Tiere (n = 9); <sup>4</sup>subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6)

Der Median von FGF-23 betrug über alle Messzeitpunkte 12 pg/ml, das erste Quartil lag bei 3 pg/ml und das dritte Quartil bei 26,54 pg/ml. Der Minimalwert lag bei 3 pg/ml und der Maximalwert bei 1385 pg/ml. Im Gruppenvergleich lag der FGF-23-Median der normokalzämischen Tiere bei 13,65 pg/ml, jener der klinisch erkrankten bei 9,86 pg/ml und bei den subklinischen Tieren betrug der Median 15,25 pg/ml (Abb. 3 und 4).



**Abb. 3:** Darstellung der Fibroblast-growth-factor-23-Werte (FGF-23) im Gruppenvergleich

<sup>1</sup>Gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24); <sup>2</sup>normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>3</sup>klinisch = festliegende Tiere (n = 9); <sup>4</sup>subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6)



**Abb. 4:** Darstellung der Fibroblast-growth-factor-23-Werte (FGF-23) ohne Werte über 300 pg/ml (Ausreißer) zur besseren Darstellbarkeit

<sup>1</sup>Gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24); <sup>2</sup>normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>3</sup>klinisch = festliegende Tiere (n = 9);

<sup>4</sup>subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6)

#### 4.1 Vergleich der Parameter und Gruppen

Mit einem  $p < 0,001$  zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen der NSBA-, FGF-23- und Ca-Analysen der verschiedenen Gruppen. Im Vergleich der NSBA-Werte war der Unterschied der Varianzen der Gruppen normokalzämisch und subklinisch im Levene-Test der Varianzgleichheit mit  $p < 0,001$  signifikant, mit einem zweiseitigen  $p = 0,210$  zeigte der t-Test für die Mittelwertgleichheit jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Stichproben. Die Varianzen der normokalzämischen und klinischen Tiere unterschieden sich mit einem  $p = 0,032$  ebenfalls signifikant, der Unterschied der Mittelwerte war mit einem  $p = 0,838$  wiederum nicht signifikant. Bei den klinischen im Vergleich mit den subklinischen Tieren wies weder der Varianzunterschied mit einem  $p = 0,178$  noch der Unterschied der Mittelwerte mit einem  $p = 0,118$  ein signifikantes Ergebnis auf (Tab. 7).

**Tab. 7:** Gruppenvergleich der NSBA<sup>1</sup>-Werte mittels t-Test für unabhängige Stichproben, signifikante Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) mit \* gekennzeichnet

Gruppen	Levene-Test	Mittelwertgleichheit	Unteres Konfidenzintervall	Oberes Konfidenzintervall
Normokalzämisch <sup>2</sup> versus klinisch <sup>3</sup>	$p = 0,032^*$	$p = 0,838$	-31,257	25,413
Normokalzämisch versus subklinisch <sup>4</sup>	$p < 0,001^*$	$p = 0,210$	-10,656	48,075
Klinisch versus subklinisch	$p = 0,178$	$p = 0,118$	-57,702	14,439

<sup>1</sup>Netto-Säure-Basen-Ausscheidung; <sup>2</sup>klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration  $> 2$  mmol/l ( $n = 9$ ); <sup>3</sup>festliegende Tiere ( $n = 9$ ); <sup>4</sup>klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von  $< 2$  mmol/l ( $n = 6$ )

Bezüglich der FGF-23-Werte zeigte sich bei allen Gruppenvergleichen ein nicht-signifikanter Unterschied (Tab. 8).

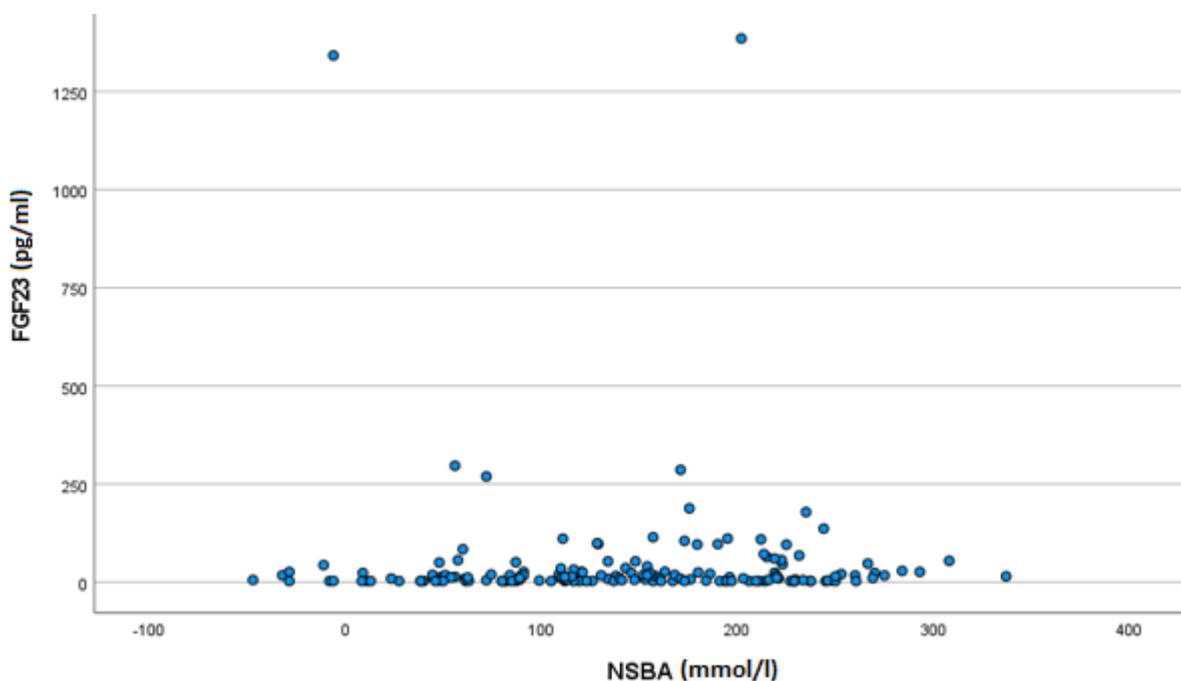
**Tab. 8:** Gruppenvergleich der fibroblast-growth-factor-23-Werte mittels Mann-Whitney-U-Test

Gruppen	Asymptomatische Signifikanz (zweiseitig)
Normokalzämisch <sup>1</sup> versus klinisch <sup>2</sup>	$p = 0,947$
Normokalzämisch versus subklinisch <sup>3</sup>	$p = 0,265$
Klinisch versus subklinisch	$p = 0,451$

<sup>1</sup>klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration  $> 2$  mmol/l ( $n = 9$ ); <sup>2</sup>festliegende Tiere ( $n = 9$ ); <sup>3</sup>klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von  $< 2$  mmol/l ( $n = 6$ )

#### 4.2 Zusammenhang von NSBA und FGF-23 *ante* und *post partum*

Die logistische Regression zeigte für den Zusammenhang von NSBA und FGF-23 kein signifikantes Ergebnis. Der Regressionskoeffizient betrug  $-0,057$  bei einem Signifikanzniveau von  $p = 0,710$  und einem korrigierten Determinationskoeffizienten von  $R^2 = -0,005$ . Da die FGF-23-Werte im Gegensatz zu den Kalzium- und NSBA-Werten keine Normalverteilung aufwiesen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet und  $p < 0,05$  als signifikant gewertet. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman war für NSBA und FGF-23 mit  $0,121$  nicht signifikant (Abb. 5 und Tab. 9).

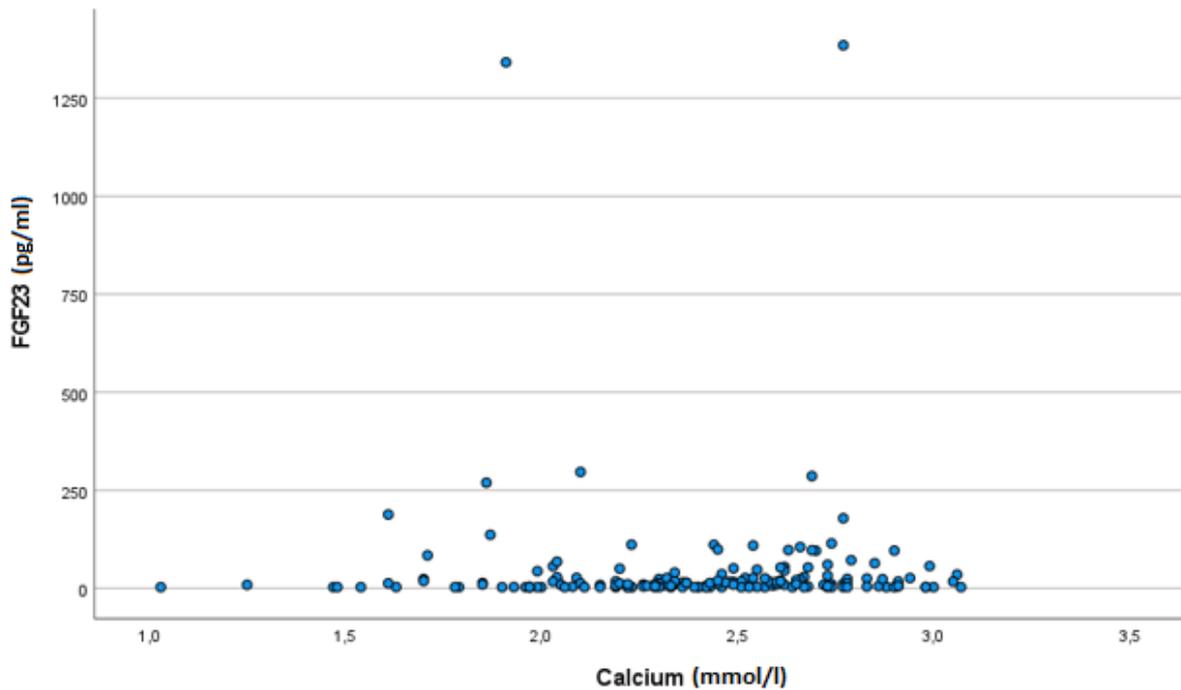


**Abb. 5:** Zusammenhang von Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA) und fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23)

#### 4.3 Zusammenhang zwischen FGF-23 und der Blutkalziumkonzentration

Bei der statistischen Auswertung aller Messzeitpunkte *ante* und *post partum* zeigte die logistische Regression mit einem Regressionskoeffizienten von  $-3,526$  mit einem korrigierten Determinationskoeffizienten von  $R^2 = -0,006$  und  $p = 0,912$  keinen signifikanten

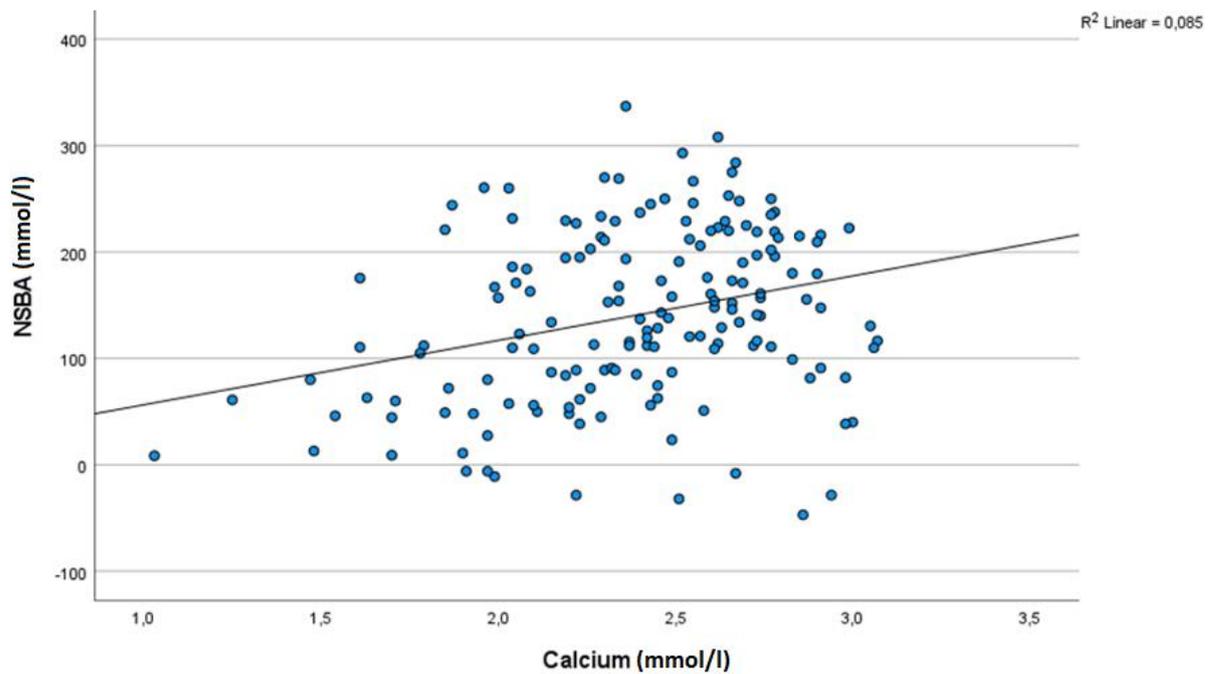
Zusammenhang von Kalzium und FGF-23. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson betrug 0,152 (Abb. 6 und Tab. 8).



**Abb. 6:** Zusammenhang von Kalzium und fibroblast-growth-factor-23

#### 4.4 Zusammenhang von Kalzium und der NSBA

Die logistische Regression zeigte für den Zusammenhang von Kalzium und der NSBA über alle Messzeitpunkte ein signifikantes Ergebnis mit einem Regressionskoeffizienten von 60,566, einem linearen Determinationskoeffizienten von  $R^2 = 0,085$  (korrigiertes  $R^2 = 0,079$ ). Der Korrelationskoeffizient nach Pearson, der aufgrund der Normalverteilung beider Werte berechnet wurde, war mit 0,291 signifikant ( $p < 0,001$ ) (Abb. 7 und Tab. 9).



**Abb. 7:** Zusammenhang von Kalzium und der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung

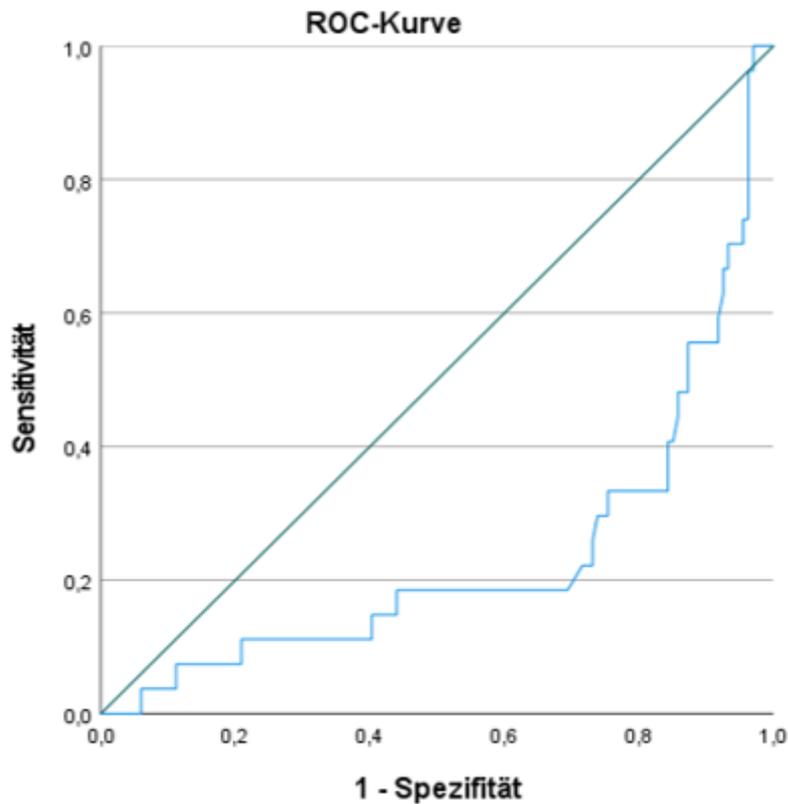
**Tab. 9:** Korrelation der Messwerte über alle Beobachtungszeitpunkte (n = 483), signifikante Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) mit \* gekennzeichnet

	FGF-23 <sup>3</sup>	NSBA
Ca <sup>1</sup>	0,152	0,291*
NSBA <sup>2</sup>	0,121	

<sup>1</sup> Kalzium; <sup>2</sup> Netto-Säure-Basen-Ausscheidung; <sup>3</sup> fibroblast-growth-factor-23

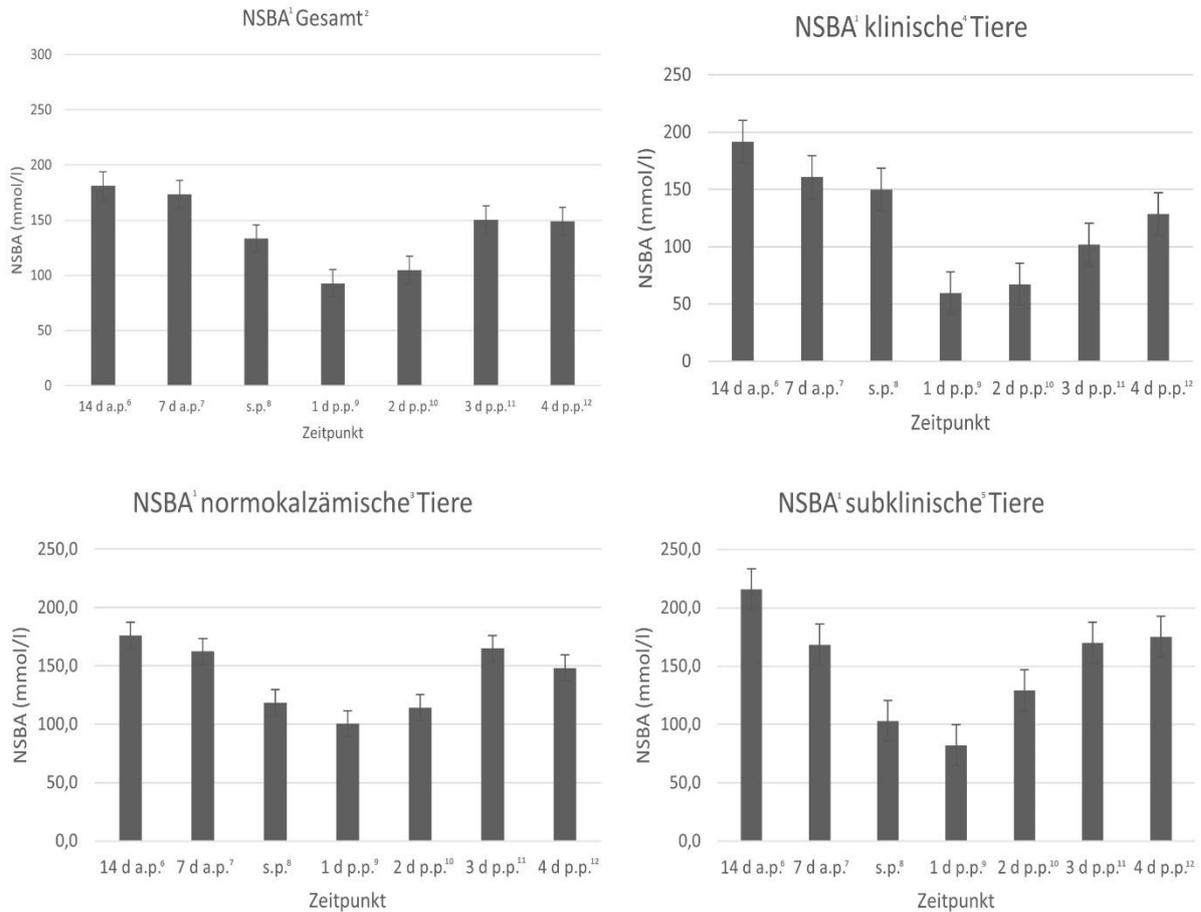
#### 4.5 Vorhersage einer Hypokalzämie *post partum* mittels NSBA *ante partum*

Die ROC-Analyse ergab für die NSBA eine Fläche unter der Kurve (Area Under the Curve, AUC) von 0,234. Über den Youden-Index wurde ein angepasster Cut-Off von -19,75 mmol/l für die Vorhersage einer Hypokalzämie berechnet. Dieser Grenzwert zeigte zwar eine Sensitivität von 100 %, aber eine Spezifität von lediglich 3 % (Abb. 8).



**Abb. 8:** Receiver-operating-characteristics-Analyse der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Harn a.p. im Verhältnis zum Auftreten von Hypokalzämie p.p.

Die NSBA zeigte im Zeitraum von 14 Tagen *ante partum* bis 24 Stunden *post partum* im Gesamten einen Abfall von 88,5 mmol/l. Im Gruppenvergleich zeigten die subklinischen Tiere den deutlichsten Abfall von 133,7 mmol/l, bei den klinischen Tieren fiel die NSBA um 131,9 mmol/l ab und bei den normokalzämischen Tieren war der Abfall mit 75,5 mmol/l am geringsten (Abb. 9 und Tab. 10).



**Abb. 9:** Abfall der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Zeitraum von 2 Wochen a.p. bis 24 Stunden p.p. im Gesamten und Gruppenvergleich

<sup>1</sup> NSBA = Netto-Säure-Basen-Ausscheidung; <sup>2</sup> gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24);

<sup>3</sup> normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>4</sup> klinisch = festliegende Tiere (n = 9); <sup>5</sup> subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6); <sup>6</sup> 14 d a.p. = 14 Tage *ante partum*; <sup>7</sup> 7 d a.p. = sieben Tage *ante partum*; <sup>8</sup> s.p. = Tag der Geburt; <sup>9</sup> 1 d p.p. = ein Tag *post partum*; <sup>10</sup> 2 d p.p. = zwei Tage *post partum*; <sup>11</sup> 3 d p.p. = drei Tage *post partum*; <sup>12</sup> 4 d p.p. = vier Tage *post partum*

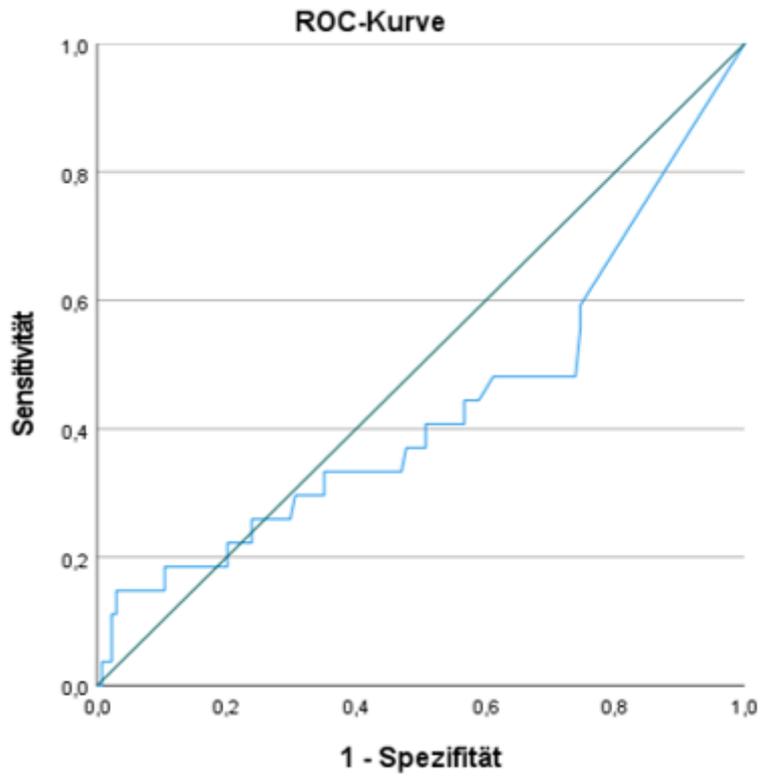
**Tab. 10:** Abfall der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Zeitverlauf

Zeitraumen	Abfall NSBA <sup>5</sup> normokalzämisch <sup>6</sup> (mmol/l)	Abfall NSBA klinisch <sup>7</sup> (mmol/l)	Abfall NSBA subklinisch <sup>8</sup> (mmol/l)	Abfall NSBA gesamt <sup>9</sup> (mmol/l)
A14 <sup>1</sup> – A7 <sup>2</sup>	13,6	30,7	47,6	7,8
A14 – P0 <sup>3</sup>	57,7	41,7	112,7	48,0
A14 – P1 <sup>4</sup>	75,5	131,9	133,7	88,5

<sup>1</sup>A14 = 14 Tage a.p.; <sup>2</sup>A7 = sieben Tage a.p.; <sup>3</sup>P0 = Tag der Geburt; <sup>4</sup>P1 = 1. Tag p.p.; <sup>5</sup>NSBA = Netto-Säure-Basen-Ausscheidung; <sup>6</sup>normokalzämisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration > 2 mmol/l (n = 9); <sup>7</sup>klinisch = festliegende Tiere (n = 9); <sup>8</sup>subklinisch = klinisch gesunde Tiere mit einer Blutkalziumkonzentration von < 2 mmol/l (n = 6); <sup>9</sup>gesamt = alle untersuchten Tiere (n = 24)

#### **4.6 Vorhersage einer Hypokalzämie *post partum* mittels FGF-23 *ante partum***

Die Kurve der ROC-Analyse ergab für FGF-23 eine AUC von 0,435 und der Youden-Index berechnete einen optimierten Cut-Off von 125,57 pg/ml. Die dadurch berechnete Sensitivität betrug 15 %, die Spezifität 97 % (Abb. 10).



**Abb. 10:** Receiver-operating-characteristics-Analyse von fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) im Blut a.p. im Verhältnis zu einer Hypokalzämie p.p.

## 5 Diskussion

Die Prävalenz der klinischen Hypokalzämie in der vorliegenden Studie übersteigt mit 37,5 % die in Österreich angegebene Auftretshäufigkeit von bis zu 30 Prozent (Dirisamer und Miklis 2017), was jedoch beabsichtigt war, da jene Betriebe mit einer hohen Inzidenz an Hypokalzämiefällen ausgewählt wurden. Mit einer Prävalenz von 25 % befanden sich die Tiere unserer Untersuchung innerhalb des in der Literatur angegebenen Rahmens einer Auftretshäufigkeit von bis zu 50 % (Horst et al. 2003, Reinhardt et al. 2011). Das zeitliche Auftreten von Hypokalzämie wurde mit 60 % der Fälle am häufigsten am Tag der Geburt beobachtet. Dies stellt keinen Widerspruch zur Literatur dar, da es auch zu diesem Zeitpunkt zu einer Hypokalzämie kommen kann, dennoch tritt sie laut Martig (2002) typischerweise erst ein bis zwei Tage nach dem Abkalben auf.

Die Wahrscheinlichkeit einer Hypokalzämie erhöht sich mit steigendem Alter und Milchleistung (DeGaris und Lean 2008), die ältesten Kühe unserer Studie (Median 7,3 Jahre) waren jedoch normokalzämisch. Mit einem Median von 5,2 Jahren waren die subklinisch erkrankten Kühe die jüngsten Tiere der Studie, die klinisch hypokalzämischen Tiere waren im Median 6,3 Jahre alt. Da diese Tiere aber mit hoher Wahrscheinlichkeit Hochleistungstiere waren, ist dies jedoch nicht weiter verwunderlich. Außerdem ist das Verteilungsmuster unserer Studie aufgrund der geringen Stichprobengröße von  $n = 24$  nicht repräsentativ für die Gesamtheit der Milchkühe in Österreich.

Der Blutkalziumgehalt erstreckte sich über alle Messzeitpunkte von 1,03 mmol/l bis 3,07 mmol/l. Am Tag des Auftretens von Hypokalzämie zeigten die subklinischen Tiere Kalziumgehalte von 1,63 mmol/l bis 1,99 mmol/l, die klinischen Tiere 1,03 mmol/l bis 2,22 mmol/l. Hier zeigt sich wieder, dass, wie von Martig (2002) beschrieben, zwischen der Kalziumkonzentration im Blut und der Ausprägung der Hypokalzämie kein enger Zusammenhang besteht. Wie von Martig (2002) angegeben, zeigten zwar alle Tiere, deren Blutkalzium  $< 1,5$  mmol/l betrug, die klinische Form der Gebärparese ( $n = 2$ ), aber nur die Hälfte der subklinischen Tiere ( $n = 3$ ) befand sich mit ihrem Blutkalziumgehalt im für diese Form angegebenen Rahmen von 2,0 – 1,75 mmol/l, die anderen drei Tiere unterschritten diesen. Ein Tier, das an klinischer Gebärparese erkrankt war, wies hingegen einen physiologischen Blutkalziumwert von 2,22 mmol/l auf. Der physiologische Kalziumgehalt im Blut wird von Baumgartner et al. (2018b) mit 2,2 – 2,6 mmol/l und von Martig (2002) mit 2,1 – 2,7 mmol/l angegeben. Insgesamt überschritten jedoch zu mindestens einem Messzeitpunkt 19 Tiere (79,2 %) den Wert von 2,6 mmol/l und 14 Tiere (58,3 %) den von 2,7 mmol/l. Die

Maximalwerte von 2,94 – 3,07 mmol/l traten bei allen Gruppen an Tag vier *post partum* auf und sind wohl Ausdruck der Kalziummobilisierung zur Deckung des erhöhten Bedarfes nach der Geburt beziehungsweise des Greifens der Kalzium-Therapie bei den festliegenden Tieren. Dies zeigt jedoch auch, dass besonders um den Zeitraum der Geburt die in der Literatur angegebenen physiologischen Blutkalziumwerte noch einmal überdacht werden sollten.

### **5.1 Detailbetrachtung der NSBA zwei Wochen *ante partum* bis vier Tage *post partum***

Die festliegenden Tiere zeigten in der vorliegenden Untersuchung im Gesamten einen signifikant niedrigeren NSBA-Durchschnittswert als die normokalzämischen Tiere, der Wert der subklinischen Tiere unterschied sich hingegen kaum von dem der normokalzämischen. In einer Studie von Hörügel und Füll (1998) befand sich der Großteil der Kühe 14 Tage a.p. mit einer durchschnittlichen NSBA von 200 mmol/l in einer annähernd alkalotischen Stoffwechsellage. Die Tiere unserer Studie befanden sich hingegen im Gesamten mit einem Wert 181,3 mmol/l zwei Wochen *ante partum* in einer physiologischen Stoffwechsellage. Im Gruppenvergleich zeigten die normokalzämischen Tiere mit einer NSBA von 142,6 mmol/l jedoch einen signifikant niedrigeren Wert als die klinischen Tiere mit 191,6 mmol/l und die subklinischen mit 223,8 mmol/l. Somit befanden sich nur die subklinischen Tiere in einer alkalotischen Stoffwechsellage, was laut Literatur für eine erhöhte Hypokalzämiegefahr sprechen würde. Diese Gegebenheit ist schwer zu erklären, da man erwarten würde, dass die Tiere, die in weiterer Folge an einer klinischen Hypokalzämie erkranken, eine deutlichere Alkalose aufweisen als die subklinischen Tiere. Bei der geringen Anzahl beprobter Tiere könnte diese Beobachtung aber auch zufällig gewesen sein, ebenso sind Messfehler nie vollständig auszuschließen. Um die Frage des Zusammenhangs zwischen NSBA a.p. und dem Auftreten einer Hypokalzämie p.p. zu überprüfen, wären weitere Untersuchungen dieses Umstandes mit einer deutlich größeren Tieranzahl notwendig.

Hörügel und Füll (1998) beschrieben für den Zeitraum von 14 Tagen vor bis zwölf Stunden nach der Geburt einen kontinuierlichen Abfall der NSBA um insgesamt etwa 120 mmol/l. Diese zunehmende Säuerung hin zur Geburt wird mit der verringerten Kaliumaufnahme begründet, da der Fötus das Pansenvolumen durch sein Wachstum einschränkt (Hörügel und Füll 1998). Moser (2018) stellte diesen Umstand in ihrer Studie ebenso fest, wenn auch nicht so stark ausgeprägt und auch in unserer Studie wurde im Zeitraum von zwei Wochen vor bis einen Tag nach dem Partus ein Abfall der NSBA beobachtet. Dieser betrug insgesamt zwar nur

88,5 mmol/l, jedoch waren hier deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. Während die normokalzämischen Tiere einen moderaten Abfall von 75,5 mmol/l zeigten, war dieser bei den klinischen Tieren mit 131,9 mmol/l um Einiges ausgeprägter und bei den subklinischen Tieren mit 133,7 mmol/l am deutlichsten zu sehen. Dies ist durch eine drastische Abnahme des Basenanteils bei den jeweiligen Tieren begründet, wie durch Detailbetrachtung der NSBA-Analysen ersichtlich wurde. Bei den Tieren, die an klinischer Gebärparese erkrankt waren, war dieser Abfall besonders zwischen dem Tag der Geburt und dem ersten Tag *post partum* zu beobachten. Da bei dem Großteil der Tiere dieser Gruppe die klinische Hypokalzämie am Tag der Geburt auftrat und die Tiere nach der Probennahme sofort therapiert wurden, ist die durch den Abfall der NSBA angezeigte zunehmende Säuerung in den folgenden 24 Stunden mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Therapie zurückzuführen. Auffallend ist jedoch, dass besonders in der letzten Woche vor der Geburt die NSBA bei den später festliegenden Tieren im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen den geringsten Abfall aufweist. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass bei den Tieren, die in weiterer Folge an der klinischen Form der Hypokalzämie erkrankten, die Regulationsmechanismen, die zu einer Säuerung der Organismus und einer damit verbundenen erhöhten Kalziumausscheidung und Aktivierung der Regulationsmechanismen führen, nicht ausreichend aktiviert wurden und es deshalb zu keinem starken Abfall der NSBA kam. Bei den subklinischen Tieren hingegen war der Abfall der NSBA bis zum Tag der Geburt kontinuierlich und fast doppelt so hoch wie bei den normokalzämischen Tieren. Wodurch dies im Detail begründet ist, lässt sich anhand der Analyseergebnisse jedoch nicht feststellen. Eine mögliche Begründung könnte sein, dass diese Tiere in den letzten beiden Wochen vor der Geburt signifikant noch weniger Kalium aufnehmen als die normokalzämischen und klinischen Tiere. Da die beprobten Tiere aus unterschiedlichen Betrieben stammen, kann diese Hypothese mit der vorliegenden Untersuchung aber nicht überprüft werden. Eine weitere Erklärung für diesen Umstand könnte sein, dass durch den ausgeprägten NSBA-Abfall und die damit verbundene Azidose ein zu großes Kalziumdefizit entsteht, welches durch die körpereigenen Mechanismen nicht mehr vollständig kompensiert werden kann und somit eine subklinische Hypokalzämie zur Folge hat. Es bleibt jedoch fraglich, ob der beobachtete Abfall der NSBA tatsächlich relevant für die Entwicklung einer subklinischen Hypokalzämie ist oder als Zufallsbefund betrachtet werden sollte. Die angeführten Erklärungen sollten jedenfalls als hypothetisch betrachtet werden, zur weiteren Überprüfung dieser Hypothesen sind weitere Studien notwendig.

## **5.2 Zusammenhang von FGF-23, NSBA und Kalzium *ante* und *post partum***

Zwischen der NSBA im Harn und der FGF-23-Konzentration im Blut konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Ebenso wenig stand FGF-23 mit der Kalziumkonzentration im Blut in Verbindung, auch dieser Zusammenhang war in der vorliegenden Untersuchung nicht signifikant. Zwischen der NSBA und dem Kalziumgehalt im Blut zeigte sich in dieser Studie zwar ein signifikanter, aber mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,291 niedriger positiver Zusammenhang. Dies bedeutet, dass mit steigenden Kalziumwerten auch die NSBA ansteigt, die Werte wiesen jedoch eine große Streuung auf. An dieser Stelle muss aber betont werden, dass diese Studie bezüglich FGF-23 eine Pilotstudie darstellt und keine vergleichbaren Daten vorhanden sind. Die Ergebnisse dieser Untersuchung liefen keine Hinweise darauf, dass FGF-23 beim Rind eine große Rolle in der Ätiologie einer Hypokalzämie und damit keine Vorhersagekraft einer solchen zukommt. Um dies genauer zu überprüfen, sind aber weitere Untersuchungen nötig.

## **5.3 Vorhersage des Kalziumgehalts *post partum* anhand der NSBA *ante partum***

Grenzwerte, die in einer früheren Studie als Grundlage zur frühdiagnostischen Prüfung der Gebärparesegefährdung festgelegt wurden, betragen 14 bzw. sieben Tage a.p. für die NSBA < 250 bzw. < 220 mmol/l, für Basen < 300 bzw. < 270 mmol/l und für den BSQ < 4,3 (Hörügel und Fürll 1998). Diese Grenzwerte konnten durch vorliegende Studie nicht bestätigt werden. Nur zwei von 15 Tieren (13,3 %), die eine Hypokalzämie entwickelten, zeigten im angegebenen Zeitraum eine NSBA über dem angegebenen Wert. Auch beim BSQ befanden sich 14 Tage a.p. lediglich zwei (13,3 %) und sieben Tage a.p. drei (20 %) der hypokalzämischen Tiere über dem Grenzwert. Zwar lagen 14 Tage a.p. acht (53,3 %) und sieben Tage a.p. sieben (46,7 %) der Tiere, die eine Hypokalzämie entwickelten, mit ihrem Basenanteil über dem Grenzwert, jedoch traf dies vereinzelt auch auf normokalzämische Tiere zu. Aufgrund dieser Umstände können die in der Literatur angegebenen Werte für eine Einschätzung der Gebärparesegefährdung von dieser Studie nicht als geeignet betrachtet werden.

Mit einem Determinationskoeffizienten von 0,085 schreibt die Regressionsanalyse der NSBA in der vorliegenden Untersuchung außerdem im Generellen nur eine sehr geringe Vorhersagekraft für den Kalziumgehalt zu. Dies bestätigt auch die ROC-Analyse mit einer AUC

von 0,239. Im Gegensatz zu Hörügel und Fürll (1998), die erhöhte NSBA-Werte mit einer erhöhten Gebärpäresorgegefährdung in Zusammenhang brachten, stellten sowohl Hoops und Fürll (2004) als auch Moser (2018) das Gegenteil fest. Auch in unserer Studie zeigte sich dies deutlich mit einem mittels Youden-Index berechneten Cut-Off von -19,75 mmol/l. Aufgrund der sehr niedrigen Spezifität von 3 % ist dieser Grenzwert jedoch trotz einer Sensitivität von 100 % nicht dafür geeignet, das Auftreten einer Hypokalzämie vorherzusagen. Somit muss auch die anfängliche Hypothese, dass erhöhte NSBA-Werte *ante partum* für eine höhere Wahrscheinlichkeit einer Hypokalzämie *post partum* sprechen, verworfen werden. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Moser (2018), in deren Studie der NSBA ebenfalls keine Vorhersagekraft für das Auftreten einer Hypokalzämie zugesprochen wurde.

#### **5.4 Vorhersage des Kalziumgehalts *post partum* anhand von FGF-23 *ante partum***

Die zweite Arbeitshypothese dieser Studie, dass erhöhte FGF-23-Konzentrationen im Blut *ante partum* für ein erhöhtes Hypokalzämierisiko sprechen, muss ebenso verworfen werden. Die Analyseergebnisse zeigen eine ausgeprägte Streuung von FGF-23 mit einem Minimum von 3 pg/ml und einem Maximum von 1385 pg/ml und lassen keine Trends erkennen. Auch zwischen den Gruppen waren die Unterschiede der FGF-23-Werte nicht signifikant und wiesen eine große Streuung auf. Die ROC-Analyse weist mit einer AUC von 0,435 ebenso auf zufällige Ergebnisse hin. Mit einer geringen Sensitivität von 15 % kann FGF-23 trotz der hohen Spezifität von 97 % für die Vorhersage einer Hypokalzämie daher nicht als geeignet betrachtet werden. Auch hier sei jedoch gesagt, dass es in der Literatur aufgrund fehlender vergleichbarer Studien keine Referenzen gibt. Außerdem sollte die Messmethode hinterfragt werden, da die ELISA-Analyse für die Bestimmung der FGF-23-Konzentration beim Rind nicht validiert ist. Zur Klärung dieser Umstände sind weitere Untersuchungen notwendig.

#### **5.5 Schussfolgerung**

Im Gegensatz zu früheren Studien, die die NSBA im Zeitraum von zwei Wochen *ante partum* bis zu höchstens einem Tag *post partum* untersuchten, wurde in dieser Studie der Verlauf der NSBA engmaschiger bis vier Tage *post partum* beschrieben, um deren weiteren Verlauf zu beobachten und eventuelle Trends festzustellen. Aufgrund der geringen Stichprobenanzahl können die beobachteten Trends jedoch nicht als allgemein gültig angesehen werden. Auch

bezüglich des Zusammenhangs von NSBA und FGF-23 strebt diese Studie keine allgemeingültige Aussage an, sondern sieht die Untersuchung als ein erstes Befassen mit der Materie bei Einzeltieren. Um die Ergebnisse zu überprüfen, sind weitere Studien mit einer größeren Stichprobenanzahl notwendig. Gesagt werden kann jedoch, dass, obwohl sich der Abfall der NSBA zur Geburt hin je nach Kalziumkonzentration deutlich unterscheidet, die NSBA *ante partum* nicht zur Vorhersage einer Hypokalzämie *post partum* geeignet ist. Auch FGF-23 scheint, basierend auf den Ergebnissen dieser Studie, in Bezug auf eine Hypokalzämie *post partum* nicht von Bedeutung zu sein und sich nicht für die Vorhersage einer solchen zu eignen, für eine genauere Klärung dieses Umstandes sind weitere Studien mit einer größeren Anzahl beprobter Tiere notwendig. Da sowohl die Analyse der NSBA als auch die von FGF-23 sehr zeit- und materialaufwändig sind, können diese beide Untersuchungen jedoch nicht als nicht praxisrelevant betrachtet werden.

## 6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Studie sollte festgestellt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der NSBA im Harn und der FGF-23-Konzentration im Blut besteht und ob aufgrund dieser Parameter eine Vorhersage hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Hypokalzämie *post partum* getroffen werden kann.

Zur Überprüfung dieser Hypothesen wurden 24 Milchkühe der Rasse Fleckvieh aus dem Kundenstock der niederösterreichischen Tierarztpraxis Jaklitsch beprobt. Es wurden dabei jene Betriebe ausgewählt, die in den letzten zwei Jahren die höchste Inzidenz an Gebärparesefällen aufgewiesen hatten. Beprobt wurden Tiere ab der zweiten Laktation, die Probennahme konzentrierte sich jedoch auf Hochleistungstiere ab einem Alter von sechs Jahren und es wurde versucht, den Einfluss von Fütterung und Haltung möglichst gering zu halten. Die Tiere durften weder vorbehandelt sein noch weitere klinische Erkrankungen aufweisen. Im Zuge der Untersuchung wurden 14 und sieben Tage a.p., am Tag der Geburt und an den ersten vier Tagen p.p. Harn- und Blutproben zur Bestimmung der NSBA und FGF-23-Konzentration genommen. Die NSBA-Analyse wurde an der Universitätsklinik für Wiederkäuer, die Analyse der FGF-23-Konzentration am Institut für Physiologie, Pathophysiologie und Biophysik der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt. Zur Auswertung der Daten wurden bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  ein t-Test für unverbundene Stichproben, ein Mann-Whitney-U-Test, die Korrelation nach Pearson und Spearman, eine ANOVA und eine ROC-Analyse berechnet und eine Regressionsanalyse durchgeführt.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie müssen die Arbeitshypothesen jedoch verworfen werden. Weder eignen sich die NSBA und FGF-23 zur Vorhersage einer Hypokalzämie, noch hängen die beiden Parameter zusammen. Die Korrelation von NSBA und FGF-23 ( $p = 0,710$ ) sowie die von FGF-23 und Kalzium ( $p = 0,912$ ) waren nicht signifikant. Kalzium und die NSBA zeigten eine signifikante, aber schwache, positive Korrelation von 0,291 ( $p < 0,001$ ). Mit einer Spezifität von 3 % kann die NSBA zur Vorhersage einer Hypokalzämie trotz einer Sensitivität von 100 % nicht als geeignet betrachtet werden. Ebenso können in der Literatur beschriebene frühdiagnostische NSBA-Grenzwerte zur Einschätzung der Gebärparesegefahr von dieser Studie nicht bestätigt werden. Aufgrund der niedrigen Sensitivität von 15 % scheint sich auch FGF-23 trotz einer Spezifität von 97 % nicht zur Vorhersage einer Hypokalzämie zu eignen. Auffallend war jedoch der beobachtete Abfall der NSBA zur Geburt hin mit deutlichen Unterschieden in dessen Stärke abhängig von der Blutkalziumkonzentration. Da die

Studienpopulation der vorliegenden Untersuchung jedoch klein war, sind zur detaillierteren Klärung der Hypothesen und Ergebnisse weitere Untersuchungen mit einer größeren Tieranzahl notwendig. Dies trifft im Besonderen auf FGF-23 zu, da hier noch keine Vergleichsstudien vorliegen und die Analyse mittels ELISA für das Rind nicht validiert ist.

## 7 Summary

The aim of this study was to determine whether there is a correlation between the urinary net-acid base excretion (NABE) and the concentration fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) in the blood and if a possible occurrence of postpartal hypocalcaemia in cows can be predicted by these parameters.

To verify these hypotheses, urine and blood samples of 24 Austrian Simmental dairy cows originating from different farms out of the regular clientele of the veterinary practice of Dr Jaklitsch, which is located in Lower Austria, were collected. The farms that showed the highest incidence of clinical hypocalcaemia in the last two years were chosen for sampling. Cows from their second lactation on were included in the study, with the focus on six-year-old or older high yielding dairy cows while trying to minimise feeding or husbandry influences. Animals which were pre-treated or showed signs of another clinical disorder were excluded from the study. Urine and blood samples were collected 14- and 7-days *ante partum*, on the day of birth and the following four days *post-partum* to determine the NABE and FGF-23 concentration. The analysis of the NABE took place at the University Clinic for Ruminants of the University of Veterinary Medicine, Vienna. The Department of Physiology, Pathophysiology and Biophysics identified the FGF-23-concentration of the blood. For the evaluation of our data, an unpaired t-test, a Mann-Whitney U test, a correlation analysis (Pearson, Spearman), an ANOVA and a ROC-analysis as well as a regression analysis have been performed at a significance level of  $p < 0,05$ .

The results of this study disprove the previously made hypotheses. Neither NABE nor FGF-23 seem to be suitable to predict the probability of hypocalcaemia and the parameters displayed no association with each other. The correlations of NABE and FGF-23 ( $p = 0,710$ ) as well as the one of FGF-23 and calcium ( $p = 0,912$ ) were non-significant. In contrast, NABE and calcium showed a significant ( $p < 0,001$ ) but week correlation of 0,291. Due to a specificity of 3 %, the NABE cannot be considered suitable for predicting the occurrence of a hypocalcaemia *post-partum* even though it had a sensitivity of 100 %. Furthermore, previously described NABE levels which helped in the early diagnosis of the occurrence of clinical hypocalcaemia cannot be validated by this study. With a poor sensitivity of 15 %, FGF-23 does not seem to be suitable for the prediction of hypocalcaemia either, despite showing a sensitivity of 97 %. However, there was an apparent decrease of the NABE towards the day of birth whose severity showed a clear difference between cows with differing blood calcium concentrations during this study. As the number of cows enrolled was quite low, further studies with a higher number of animals

are needed to clarify the results of this study. This especially applies to FGF-23 in cows, as no other studies concerning this parameter are available and the methods of its analysis are not validated for cattle.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

1,25-D <sub>3</sub>	1α,25-Dihydroxyvitamin D, Calcitriol
24,25-D <sub>3</sub>	24,25-Dihydroxycholecalciferol
25-D <sub>3</sub>	25-Hydroxyvitamin D, Calcidiol
AG	Anionenlücke
ADHR	autosomal dominant vererbte hypophosphatämische Rachitis
AP	Alkalische Phosphatase
a.p.	ante partum
AST	Aspartat-Amino-Transferase
AUC	Fläche unter der Kurve, area under the curve
BE	Base Excess
BCS	Body Condition Score
BSQ	Basen-Säuren-Quotient
Ca	Kalzium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CK	Creatininkinase
Cl <sup>-</sup>	Chlorid
Crea	Kreatinin
DCAD	Kationen-Anionen-Differenz
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FGF-23	fibroblast-growth-factor-23
Futter-BE	Futterbasenüberschuss
H <sup>+</sup>	Wasserstoff-Ionen
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonat
K <sup>+</sup>	Kalium
KGW	Körpergewicht
Mg	Magnesium
Na <sup>+</sup>	Natrium
NaOH	Natriumhydroxid

$\text{NH}_4^+$	Ammonium
NSBA	Netto-Säure-Basen-Ausscheidung
$\text{pCO}_2$	Kohlendioxidpartialdruck
P	Phosphor
$\text{P}_i$	anorganisches Phosphat
p.p.	post partum
PTH	Parathormon
ROC	receiver operating characteristics
$\text{tCO}_2$	Gesamtkohlendioxid
TIO	tumorinduzierte Osteomalazie
TM	Trockenmasse
TNAP	nicht-gewebespezifische alkalische Phosphatase
TRPV-5	Transienter Rezeptor Potential Vanilloid 5 Kalziumkanal

## 9 Literaturverzeichnis

Abu Damir H, Phillippo M, Thorp BH, Milne JS, Dick L, Inevision IM. 1994. Effects of dietary acidity on calcium balance and mobilisation, bone morphology and 1,25 dihydroxyvitamin D in prepartal dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 56 (3): 310–318. DOI 10.1016/0034-5288(94)90147-3.

Addison WN, Azari F, Sørensen ES, Kaartinen MT, McKee MD. 2007. Pyrophosphate inhibits mineralization of osteoblast cultures by binding to mineral, up-regulating osteopontin, and inhibiting alkaline phosphatase activity. *The Journal of biological chemistry*, 282 (21): 15872–15883. DOI 10.1074/jbc.M701116200.

Albright JL, Blosser TH. 1957. Blood Levels and Urinary Excretion of Calcium in Normal Cows and Cows with Parturient Paresis after Intravenous Injections with Calcium Borogluconate. *Journal of dairy science*, 40 (5): 477–486. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(57)94509-5.

Anast CS, Mohs JM, Kaplan SL, Burns TW. 1972. Evidence for parathyroid failure in magnesium deficiency. *Science (New York, N.Y.)*, 177 (4049): 606–608. DOI 10.1126/science.177.4049.606.

Andrukhova O, Smorodchenko A, Egerbacher M, Streicher C, Zeitz U, Goetz R, Shalhoub V, Mohammadi M, Pohl EE, Lanske B, Erben RG. 2014. FGF23 promotes renal calcium reabsorption through the TRPV5 channel. *The EMBO journal*, 33 (3): 229–246. DOI 10.1002/emj.201284188.

Andrukhova O, Streicher C, Zeitz U, Erben RG. 2016. Fgf23 and parathyroid hormone signaling interact in kidney and bone. *Molecular and cellular endocrinology*, 436: 224–239. DOI 10.1016/j.mce.2016.07.035.

Andrukhova O, Zeitz U, Goetz R, Mohammadi M, Lanske B, Erben RG. 2012. FGF23 acts directly on renal proximal tubules to induce phosphaturia through activation of the ERK1/2-SGK1 signaling pathway. *Bone*, 51 (3): 621–628. DOI 10.1016/j.bone.2012.05.015.

Bacic D, Schulz N, Biber J, Kaissling B, Murer H, Wagner CA. 2003. Involvement of the MAPK-kinase pathway in the PTH-mediated regulation of the proximal tubule type IIa Na<sup>+</sup>/P<sub>i</sub> cotransporter in mouse kidney. *Pflügers Archiv*, 446 (1): 52–60. DOI 10.1007/s00424-002-0969-8.

Baroncelli GI, Toschi B, Bertelloni S. 2012. Hypophosphatemic rickets. Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity, 19 (6): 460–467.

DOI 10.1097/MED.0b013e328358be97.

Baum M, Engelhard T, Flachowsky G, Jilg T, Leonhard-Marek S, Mahlkow-Nerge K, Prang N, Pries M, Spolder M, Staudacher W, Staufenbiel R, Hrsg. 2010. Erfolgreiche Milchfieberprophylaxe. Eine Information des DLG-Arbeitskreises Futter und Fütterung. Frankfurt am Main: DLG-Verlag.

Baum M, Schiavi S, Dwarakanath V, Quigley R. 2005. Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubules. Kidney international, 68 (3): 1148–1153.

DOI 10.1111/j.1523-1755.2005.00506.x.

Baumgartner W, Schwendenwein I, Wittek T. 2018b. Untersuchung des Blutes. In: Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere. Neunte., aktualisierte und erweiterte Auflage. Stuttgart: Enke Verlag, 363.

Bender S, Gelfert C-C, Staufenbiel R. 2003. Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushalts in der Bestandsbetreuung von Milchkuhherden. Tierärztliche Praxis: 132–142.

Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, Sirkis R, Naveh-Many T, Silver J. 2007. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. The Journal of clinical investigation, 117 (12): 4003–4008. DOI 10.1172/JCI32409.

Block E. 1984. Manipulating Dietary Anions and Cations for Parturient Dairy Cows to Reduce Incidence of Milk Fever. Journal of dairy science, 67 (12): 2939–2948.

DOI 10.3168/jds.S0022-0302(84)81657-4.

Bostedt H, Wendt V, Prinzen R. 1979. Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. Der Praktische Tierarzt, (60): 18–34.

Braithwaite GD. 1976. Calcium and phosphorus metabolism in ruminants with special reference to parturient paresis. The Journal of dairy research, 43 (3): 501–520.

DOI 10.1017/s0022029900016095.

Branca F. 1996. Biochemical markers of skeletal growth in children. Bibliotheca nutritio et dieta, (53): 90–102. DOI 10.1159/000425434.

Breves G, Schröder B, Muscher A. 2010. Luminal and endocrine factors for regulation of intestinal monosaccharide and Ca<sup>2+</sup> transport. *Livestock Science*, 134 (1-3): 4–10.

DOI 10.1016/j.livsci.2010.06.081.

Bushinsky DA. 2001. Dysregulation of the calcium, phosphorus, parathyroid hormone, and vitamin D axis: what are the causes and risks? *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 37 (6): 1310–1312.

DOI 10.1053/ajkd.2001.25519.

Case RM, Eisner D, Gurney A, Jones O, Muallem S, Verkhatsky A. 2007. Evolution of calcium homeostasis: from birth of the first cell to an omnipresent signalling system. *Cell Calcium*, 42 (4-5): 345–350. DOI 10.1016/j.ceca.2007.05.001.

Chapinal N, Carson M, Duffield TF, Capel M, Godden S, Overton M, Santos JEP, LeBlanc SJ. 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of dairy science*, 94 (10): 4897–4903. DOI 10.3168/jds.2010-4075.

Cole JA. 1999. Parathyroid Hormone Activates Mitogen-Activated Protein Kinase in Opossum Kidney Cells. *Endocrinology*, 140 (12): 5771–5779. DOI 10.1210/en.140.12.5771.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD. 1984. Epidemiology of Parturient Paresis: Predisposing Factors with Emphasis on Dry Cow Feeding and Management<sup>1</sup>. *Journal of dairy science*, 67 (4): 817–825. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(84)81372-7.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, White ME, Hillman RB, Pearson EJ. 1983. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 183 (5): 559–561.

Datta NS, Abou-Samra AB. 2009. PTH and PTHrP signaling in osteoblasts. *Cellular signalling*, 21 (8): 1245–1254. DOI 10.1016/j.cellsig.2009.02.012.

DeGaris PJ, Lean IJ. 2008. Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, 176 (1): 58–69. DOI 10.1016/j.tvjl.2007.12.029.

Dirisamer M, Miklis A. 2017. Fragebogenerhebung zu Vorkommen und Ursache des Festliegens bei Milchrindern in Niederösterreich [Diplomarbeit]. Vetmeduni Wien.

Doll K, Sickinger M, Seeger T. 2009. New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. *The Veterinary Journal*, 181 (2): 90–96. DOI 10.1016/j.tvjl.2008.01.013.

Eleanor D. Lederer, Sameet S. Sohi, Kenneth R. Mcleish. 2000. Parathyroid Hormone Stimulates Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) Activity Through Two Independent Signal Transduction Pathways Role of ERK in Sodium-Phosphate Cotransport. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11 (2): 222–231.

[https://www.researchgate.net/publication/12649261\\_Parathyroid\\_Hormone\\_Stimulates\\_Extracellular\\_Signal-Regulated\\_Kinase\\_ERK\\_Activity\\_Through\\_Two\\_Independent\\_Signal\\_Transduction\\_Pathways\\_Role\\_of\\_ERK\\_in\\_Sodium-Phosphate\\_Cotransport](https://www.researchgate.net/publication/12649261_Parathyroid_Hormone_Stimulates_Extracellular_Signal-Regulated_Kinase_ERK_Activity_Through_Two_Independent_Signal_Transduction_Pathways_Role_of_ERK_in_Sodium-Phosphate_Cotransport).

Erben RG. 2001. Vitamin D analogs and bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, (2 (1)): 59–69.

Erben RG. 2015. Knochen und Calciumhomöostase. In: Engelhardt, Wolfgang von; Breves, Gerhard; Diener, Martin; Gäbel, Gotthold Hrsg. *Physiologie der Haustiere*. Fünfte., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Enke Verlag, 628-631.

Erben RG. 2016. Update on FGF23 and Klotho signaling. *Molecular and cellular endocrinology*, 432: 56–65. DOI 10.1016/j.mce.2016.05.008.

Erben RG. 2018. Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23. *Frontiers in endocrinology*, 9: 267. DOI 10.3389/fendo.2018.00267.

Farrow EG, Summers LJ, Schiavi SC, McCormick JA, Ellison DH, White KE. 2010. Altered renal FGF23-mediated activity involving MAPK and Wnt: effects of the Hyp mutation. *The Journal of endocrinology*, 207 (1): 67–75. DOI 10.1677/JOE-10-0181.

Fürll M. 1993. Diagnostik und Therapie chronischer Störungen des Säure- Basen- Haushaltes (SBH) bei Rindern. *Der Praktische Tierarzt, (Collegium Veterinarium XXIV)*: 49–54.

Fürll M, Eckermann W, Amin M. 1994. Säure- Basen- und Mineralstoff - Haushalt bei gesunden Kühen im geburtsnahen Zeitraum. *Tierärztliche Umschau* 49: 107–115.

Fürll M, Jäkel L, Bauernfeld J, Groppe B. 1996. Gebärpareseprophylaxe mit „Anionenrationen“. *Der Praktische Tierarzt, (Collegium Veterinarium XXVI)*: 31–34.

Fürll M, Kirbach H. 1997. "Neues" zur Harnreaktion (NSBA) bei Wiederkäuern. 6. Jahrestagung der Fachgruppe „Innere Medizin und Klinische Laboratoriumsdiagnostik“ in der DVG, München: 5.-9. März 1997.

- Gast DR, Horst RL, Jorgensen NA, DeLuca HF. 1979. Potential Use of 1,25-Dihydroxycholecalciferol for Prevention of Parturient Paresis. *Journal of dairy science*, 62 (6): 1009–1013. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(79)83364-0.
- Gelfert C-C, Lesch S, Alpers I. 2006. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. Teil 2: Differenzialdiagnosen und Heilungserfolg. *Tierärztliche Praxis*, (34): 357–367.
- Goff JP. 1999. Treatment of Calcium, Phosphorus, and Magnesium Balance Disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 15 (3): 619–639. DOI 10.1016/S0749-0720(15)30167-5.
- Goff JP. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176 (1): 50–57. DOI 10.1016/j.tvjl.2007.12.020.
- Goff JP, Horst RL. 1997a. Effects of the Addition of Potassium or Sodium, but Not Calcium, to Prepartum Rations on Milk Fever in Dairy Cows<sup>1</sup>. *Journal of dairy science*, 80 (1): 176–186. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(97)75925-3.
- Goff JP, Horst RL. 1997b. Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders<sup>1, 2</sup>. *Journal of dairy science*, 80 (7): 1260–1268. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7.
- Goff JP, Horst RL. 2003. Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcaemia (milk fever) - The DCAD theory in principal and practice. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 97 (97): 51–56.  
[https://www.researchgate.net/publication/9006162\\_Role\\_of\\_acid-base\\_physiology\\_on\\_the\\_pathogenesis\\_of\\_parturient\\_hypocalcaemia\\_milk\\_fever\\_-\\_The\\_DCAD\\_theory\\_in\\_principal\\_and\\_practice](https://www.researchgate.net/publication/9006162_Role_of_acid-base_physiology_on_the_pathogenesis_of_parturient_hypocalcaemia_milk_fever_-_The_DCAD_theory_in_principal_and_practice).
- Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, Miller JK, Kiess GA, Dowlen HH. 1991. Addition of Chloride to a Prepartal Diet High in Cations Increases 1,25-Dihydroxyvitamin D Response to Hypocalcemia Preventing Milk Fever. *Journal of dairy science*, 74 (11): 3863–3871. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(91)78579-2.

- Goings RL, Jacobson NL, Beitz DC, Littledike ET, Wiggers KD. 1974. Prevention of Parturient Paresis by a Prepartum, Calcium-Deficient Diet. *Journal of dairy science*, 57 (10): 1184–1188. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(74)85034-4.
- Grabherr H, Spolders M, Füll M, Flachowsky G. 2009. Effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 93 (2): 221–236. DOI 10.1111/j.1439-0396.2008.00808.x.
- Grünberg W. 2014. Treatment of phosphorus balance disorders. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 30 (2). DOI 10.1016/j.cvfa.2014.03.002.
- Han X, Yang J, Li L, Huang J, King G, Quarles LD. 2016. Conditional Deletion of Fgfr1 in the Proximal and Distal Tubule Identifies Distinct Roles in Phosphate and Calcium Transport. *PloS one*, 11 (2): e0147845. DOI 10.1371/journal.pone.0147845.
- Hofmann W, Bardella I, Baumgartner W, Bostedt H. 2005. Gebärparese, Hypophosphatämisches Festliegen, Downer Cow Syndrome. In: *Rinderkrankheiten: Innere und chirurgische Erkrankungen des Rindes*. Mit 157 Tabellen. Zweite., Vollst. überarb. Aufl. Stuttgart: Ulmer, 407-415.
- Hoops M, Füll M. 2004. Metabolic Causes of Seasonal Morbidity Variations in High Yielding Dairy Cows Respecting Feeding. 13th World Buiatrics Congress Quebec: 91.
- Horst RL, Goff JP, McCluskey BJ. 2003. Prevalence of subclinical hypocalcemia in U.S dairy operations. US Department of Agriculture (USDA) Agricultural Research Service, Washington, DC.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. 1992. Calcium and vitamin D metabolism in dairy cows with special emphasis on parturient paresis. *Proceedings VIII. International Congress on Production Diseases*, Bern: pp. 159–171.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. 1994. Calcium and Vitamin D Metabolism in the Dairy Cow. *Journal of dairy science*, 77 (7): 1936–1951. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(94)77140-X.
- Hörügel U, Füll M. 1998. Untersuchungen zur Früherkennung der Gebärparesegefährdung bei Kühen. *Der Praktische Tierarzt*, (Collegium Veterinarium XXVIII).
- Hove K, Horst RL, Littledike ET. 1983. Effects of 1 $\alpha$ -Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1,24,25-Trihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, and 1,25,26-Trihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on

Mineral Metabolism and 1,25-Dihydroxyvitamin D Concentrations in Dairy Cows. *Journal of dairy science*, 66 (1): 59–66. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(83)81753-6.

Ichikawa S, Imel EA, Kreiter ML, Yu X, Mackenzie DS, Sorenson AH, Goetz R, Mohammadi M, White KE, Econs MJ. 2007. A homozygous missense mutation in human KLOTTHO causes severe tumoral calcinosis. *The Journal of clinical investigation*, 117 (9): 2684–2691. DOI 10.1172/JCI31330.

Ichikawa S, Sorenson AH, Austin AM, Mackenzie DS, Fritz TA, Moh A, Hui SL, Econs MJ. 2009. Ablation of the Galnt3 gene leads to low-circulating intact fibroblast growth factor 23 (Fgf23) concentrations and hyperphosphatemia despite increased Fgf23 expression. *Endocrinology*, 150 (6): 2543–2550. DOI 10.1210/en.2008-0877.

Jüppner H, Wolf M, Salusky IB. 2010. FGF-23: More than a regulator of renal phosphate handling? *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 25 (10): 2091–2097. DOI 10.1002/jbmr.170.

Kato K, Jeanneau C, Tarp MA, Benet-Pagès A, Lorenz-Depiereux B, Bennett EP, Mandel U, Strom TM, Clausen H. 2006. Polypeptide GalNAc-transferase T3 and familial tumoral calcinosis. Secretion of fibroblast growth factor 23 requires O-glycosylation. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (27): 18370–18377. DOI 10.1074/jbc.M602469200.

Khol JL, Moser K, Miklis A, Dirisamer M, Wittek T. 2020. Wesen, Ursachen, Therapie und Prophylaxe der hypokalzämischen Gebärparese beim Rind. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 48 (3): 173–182. DOI 10.1055/a-1177-2401.

Krapf R, Jaeger P, Hulter HN. 1992. Chronic respiratory alkalosis induces renal PTH-resistance, hyperphosphatemia and hypocalcemia in humans. *Kidney international*, 42 (3): 727–734. DOI 10.1038/ki.1992.340.

Kümper H. 1992. Aspirationspneumonien und andere Komplikationen infolge oraler Applikation von Kalziumchloridgel bei der Milchkuh. *Der Praktische Tierarzt, (Collegium veterinarium XXIII)*: 19–23.

Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI. 1997. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 390 (6655): 45–51. DOI 10.1038/36285.

- Kutas F. 1965. Determination of net acid-base excretion in the urine of cattle. A method for the estimation of acid-base equilibrium. *Acta veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 15: 147–153.
- Lambers TT, Bindels RJM, Hoenderop JGJ. 2006. Coordinated control of renal Ca<sup>2+</sup> handling. *Kidney international*, 69 (4): 650–654. DOI 10.1038/sj.ki.5000169.
- Lavi-Moshayoff V, Silver J, Naveh-Many T. 2009. Human PTH gene regulation in vivo using transgenic mice. *American journal of physiology. Renal physiology*, 297 (3): F713-9. DOI 10.1152/ajprenal.00161.2009.
- Lemaire V, Tobin FL, Greller LD, Cho CR, Suva LJ. 2004. Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *Journal of theoretical biology*, 229 (3): 293–309. DOI 10.1016/j.jtbi.2004.03.023.
- Liesegang A, Eicher R, Sassi ML, Risteli J, Riond JL, Wanner M. 2000. The course of selected bone resorption marker concentrations in response to short-term hypocalcemia experimentally induced with disodium EDTA infusions in dairy cows. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 47 (8): 477–487. DOI 10.1046/j.1439-0442.2000.00308.x.
- Littledike ET, Horst RL. 1982. Vitamin D<sub>3</sub> Toxicity in Dairy Cows. *Journal of dairy science*, 65 (5): 749–759. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(82)82263-7.
- Madison JB, Troutt HF. 1988. Effects of hypocalcaemia on abomasal motility. *Research in Veterinary Science*, 44 (2): 264–266. DOI 10.1016/S0034-5288(18)30854-3.
- Mahlkow-Nerge K. 2008. Stoffwechselstörungen bei Milchkühen–Wie kann der Landwirt diesen begegnen? Sonderheft der Landbauforschung. [https://www.researchgate.net/publication/228396317\\_Stoffwechselstorungen\\_bei\\_Milchkuhen-Wie\\_kann\\_der\\_Landwirt\\_diesen\\_begegnen](https://www.researchgate.net/publication/228396317_Stoffwechselstorungen_bei_Milchkuhen-Wie_kann_der_Landwirt_diesen_begegnen).
- Martig J. 2002. Hypokalzämische Gebärlähmung. In: Dirksen G, Gründer H, Stöber M, Hrsg. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Vierte Aufl. Berlin: Parey, 1245-1254.
- Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão K, Santos JEP. 2012. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of dairy science*, 95 (12): 7158–7172. DOI 10.3168/jds.2012-5812.

- Martin-Tereso J, Martens H. 2014. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 30 (3): 643–670. DOI 10.1016/j.cvfa.2014.07.007.
- Martín-Tereso J, Verstegen MWA. 2011. A novel model to explain dietary factors affecting hypocalcaemia in dairy cattle. *Nutrition research reviews*, 24 (2): 228–243. DOI 10.1017/S0954422411000126.
- Moritz A, Schwendenwein I, Kraft W, Hrsg. 2014. Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA). In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin - Der neue Kraft/Dürr; mit 286 Tabellen. Siebte., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage*. Stuttgart: Schattauer, 432-436.
- Moser K. 2018. Vorhersage Der Gebärparese Beim Rind Anhand Der Blutgasanalyse Ante Partum [Diplomarbeit]. Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML. 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science*, 96 (3-4): 331–353. DOI 10.1016/j.anireprosci.2006.08.011.
- Murali SK, Roschger P, Zeitz U, Klaushofer K, Andrukhova O, Erben RG. 2016. FGF23 Regulates Bone Mineralization in a 1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> and Klotho-Independent Manner. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 31 (1): 129–142. DOI 10.1002/jbmr.2606.
- Neves RC, Leno BM, Curler MD, Thomas MJ, Overton TR, McArt JAA. 2018. Association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 101 (1): 547–555. DOI 10.3168/jds.2017-13313.
- Olauson H, Lindberg K, Amin R, Sato T, Jia T, Goetz R, Mohammadi M, Andersson G, Lanske B, Larsson TE. 2013. Parathyroid-specific deletion of Klotho unravels a novel calcineurin-dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. *PLoS genetics*, 9 (12): e1003975. DOI 10.1371/journal.pgen.1003975.
- Poole KES, Reeve J. 2005. Parathyroid hormone - a bone anabolic and catabolic agent. *Current opinion in pharmacology*, 5 (6): 612–617. DOI 10.1016/j.coph.2005.07.004.

- Potts JT. 2005. Parathyroid hormone: past and present. *The Journal of endocrinology*, 187 (3): 311–325. DOI 10.1677/joe.1.06057.
- Quinn SJ, Thomsen ARB, Pang JL, Kantham L, Bräuner-Osborne H, Pollak M, Goltzman D, Brown EM. 2013. Interactions between calcium and phosphorus in the regulation of the production of fibroblast growth factor 23 in vivo. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 304 (3): E310-20. DOI 10.1152/ajpendo.00460.2012.
- Ramberg CF, Johnson EK, Fargo RD, Kronfeld DS. 1984. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *The American journal of physiology*, 246 (5 Pt 2): R698-704. DOI 10.1152/ajpregu.1984.246.5.R698.
- Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. 2011. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, 188 (1): 122–124. DOI 10.1016/j.tvjl.2010.03.025.
- Rossow N, Bolduan G, Hrsg. 1994. Gebärparese des Rindes. In: *Stoffwechselstörungen bei Haustieren*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Schonewille JT, Van't Klooster AT, Dirkzwager A, Beynen AC. 1994. Stimulatory effect of an anion(chloride)-rich ration on apparent calcium absorption in dairy cows. *Livestock Production Science*, 40 (3): 233–240. DOI 10.1016/0301-6226(94)90091-4.
- Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T, Fukumoto S, Tomizuka K, Yamashita T. 2004. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 113 (4): 561–568. DOI 10.1172/JCI19081.
- Sitara D, Razzaque MS, Hesse M, Yoganathan S, Taguchi T, Erben RG, J+APw-ppner H, Lanske B. 2004. Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in PheX-deficient mice. *Matrix Biology*, 23 (7): 421–432. DOI 10.1016/j.matbio.2004.09.007.
- Staufenbiel R. 1997. Konditionsbeurteilung von Milchkühen mit Hilfe der sonographischen Rückenfettdickemessung. *Der Praktische Tierarzt* 27: 87–92.
- Staufenbiel R. 1999. Prophylaxe der Gebärparese Teil 1. *Veterinärspiegel* 3: 262–267.
- Taylor MS, Knowlton KF, McGilliard ML, Seymour WM, Herbein JH. 2008. Blood Mineral, Hormone, and Osteocalcin Responses of Multiparous Jersey Cows to an Oral Dose of 25-

Hydroxyvitamin D3 or Vitamin D3 Before Parturition. *Journal of dairy science*, 91 (6): 2408–2416. DOI 10.3168/jds.2007-0750.

TGD. 2011. Programm Gesundheitsmonitoring. Tiergesundheitsdienst Österreich (TGD). <https://zar.at/dam/jcr:015dd348-0606-4677-9df2-e4f0fd009c72/TGD%20Programm.pdf> (Zugriff 04.12.2021).

The ADHR Consortium. 2000. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nature genetics*, 26 (3): 345–348. DOI 10.1038/81664.

Thèbault S, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. 2006. Epithelial Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> Channels in Kidney Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*, (13(2)): 110–117.

Thihsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. 2002a. The Effect of Zeolite A Supplementation in the Dry Period on Periparturient Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis. *Journal of dairy science*, 85 (7): 1855–1862. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(02)74259-8.

Thihsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Østergaard S. 2002b. Milk Fever Control Principles: A Review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43 (1): 1–19. DOI 10.1186/1751-0147-43-1.

Topaz O, Shurman DL, Bergman R, Indelman M, Ratajczak P, Mizrachi M, Khamaysi Z, Behar D, Petronius D, Friedman V, Zelikovic I, Raimer S, Metzker A, Richard G, Sprecher E. 2004. Mutations in GALNT3, encoding a protein involved in O-linked glycosylation, cause familial tumoral calcinosis. *Nature genetics*, 36 (6): 579–581. DOI 10.1038/ng1358.

Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, Fujita T, Fukumoto S, Yamashita T. 2006. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*, 444 (7120): 770–774. DOI 10.1038/nature05315.

Weinman EJ, Biswas RS, Peng G, Peng Q, Shen L, Turner CL, E X, Steplock D, Shenolikar S, Cunningham R. 2007. Parathyroid hormone inhibits renal phosphate transport by phosphorylation of serine 77 of sodium-hydrogen exchanger regulatory factor-1. *The Journal of clinical investigation*, 117 (11): 3412–3420. DOI 10.1172/JCI32738.

White KE, Econs MJ. 2008. Fibroblast growth factor-23. In: Rosen CJ, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Washington, DC: American Society of Bone and Mineral Research: 112–116.

Yuan Q, Sato T, Densmore M, Saito H, Schüler C, Erben RG, Lanske B. 2011. FGF-23/Klotho signaling is not essential for the phosphaturic and anabolic functions of PTH. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 26 (9): 2026–2035. DOI 10.1002/jbmr.433.

Zimmer FJ. 2006. Stoffwechselüberwachung und Fütterungskontrollen aus der Sicht eines Praktikers. *Proc. Fachseminar Tierärztlicher Bestandsbetreuung beim Rind IV, Vulpera*: 1–26.

## 10 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Darstellung der Blutkalziumkonzentration im Gruppenvergleich .....	37
<b>Abb. 2:</b> Darstellung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA) im Gruppenvergleich.....	38
<b>Abb. 3:</b> Darstellung der Fibroblast-growth-factor-23-Werte (FGF-23) im Gruppenvergleich.....	39
<b>Abb. 4:</b> Darstellung der Fibroblast-growth-factor-23-Werte (FGF-23) ohne Werte über 300 pg/ml (Ausreißer) zur besseren Darstellbarkeit .....	40
<b>Abb. 5:</b> Zusammenhang von Netto-Säure-Basen-Ausscheidung (NSBA) und fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) .....	42
<b>Abb. 6:</b> Zusammenhang von Kalzium und fibroblast-growth-factor-23 .....	43
<b>Abb. 7:</b> Zusammenhang von Kalzium und der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung .....	44
<b>Abb. 8:</b> Receiver-operating-characteristics-Analyse der Netto-Säure-Basen- Ausscheidung im Harn a.p. im Verhältnis zum Auftreten von Hypokalzämie p.p. ....	45
<b>Abb. 9:</b> Abfall der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Zeitraum von 2 Wochen a.p. bis 24 Stunden p.p. im Gesamten und Gruppenvergleich .....	46
<b>Abb. 10:</b> Receiver-operating-characteristics-Analyse von fibroblast-growth-factor-23 (FGF-23) im Blut a.p. im Verhältnis zu einer Hypokalzämie p.p. ....	48

## 11 Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> Berechnung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung mittels Mikrotitriermethode (Moritz et al. 2014) .....	18
<b>Tab. 2:</b> Referenzbereiche für die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung beim Rind (Moritz et al. 2014) .....	19
<b>Tab. 3:</b> Symptome der Gebärparese in Relation zur Kalziumkonzentration im Blut (Martig 2002) .....	22
<b>Tab. 4:</b> Zeitpunkt der Untersuchung, Medium und durchgeführte Analysen .....	32
<b>Tab. 5:</b> Durchführung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung nach Kutas (1965) .....	34
<b>Tab. 6:</b> Zeitpunkt des Auftretens von klinischer und subklinischer Hypokalzämie bei Den Einzeltieren mit zugehörigen Blutkalziumwerten .....	37
<b>Tab. 7:</b> Gruppenvergleich der NSBA-Werte mittels t-Test für unabhängige Stichproben, signifikante Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) mit * gekennzeichnet .....	41
<b>Tab. 8:</b> Gruppenvergleich der fibroblast-growth-factor-23-Werte mittels Mann-Whitney-U-Test .....	41
<b>Tab. 9:</b> Korrelation der Messwerte über alle Beobachtungszeitpunkte ( $n = 483$ ), signifikante Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) mit * gekennzeichnet .....	44
<b>Tab. 10:</b> Abfall der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Zeitverlauf .....	47