

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

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Manfred Stangassinger

Ist die funktionelle Vormagenentwicklung mittels Blutparameter-
Monitoring in einer Feldstudie an Kälbern darstellbar?

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

von Sigrid Cordula Ledl, geb. Hennigs
aus München

München 2014

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Klee

Tag der Promotion: 08. Februar 2014

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	6
2.1	Körpergewicht	6
2.2	Allantoin	7
2.3	Hippursäure	12
2.4	Pseudouridin	15
2.5	Melatonin	16
2.6	Gesamtprotein	19
2.7	Harnstoff	20
2.8	Kreatinin	23
2.9	Triglyceride	24
2.10	β -Hydroxybutyrat	25
2.11	Glucose	28
2.12	Insulin	31
3	MATERIAL UND METHODEN	34
3.1	Versuchskonzept	34
3.2	Kälber	34
3.3	Fütterung und Haltung	35
3.4	Wiegen der Kälber	37
3.5	Blutentnahme bei den Kälbern	37
3.6	Verarbeitung des Blutes	37
3.7	Analyseverfahren	39
3.7.1	Allantoin, Hippursäure, Pseudouridin	39
3.7.2	Melatonin	40
3.7.3	Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Triglyceride, β -Hydroxybutyrat, Glucose	41
3.7.3.1	Gesamtprotein	41
3.7.3.2	Harnstoff	41
3.7.3.3	Kreatinin	42
3.7.3.4	Triglyceride	42

3.7.3.5	β-Hydroxybutyrat	42
3.7.3.6	Glucose	43
3.7.4	Insulin	43
3.8	Validierung des INS-IRMA´s	45
3.8.1	Gewinnung des Materials für die Validierung	45
3.8.2	Ermittlung der Glucose- und Insulinwerte	45
3.8.3	Präzision, Wiederfindung, Verdünnung	46
3.9	Weitere Berechnungen und statistische Methoden	48
3.10	Allgemeine Erläuterungen zur Darstellung der Ergebnisse in Tabellen und Abbildungen	49
4	ERGEBNISSE	51
4.1	Körpergewicht der Kälber	51
4.2	Altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Metaboliten und Hormonen im Blutplasma	53
4.2.1	Allantoin	53
4.2.2	Hippursäure	55
4.2.3	Pseudouridin	59
4.2.4	Melatonin	62
4.2.5	Gesamtprotein	64
4.2.6	Harnstoff	67
4.2.7	Kreatinin	69
4.2.8	Triglyceride	72
4.2.9	β-Hydroxybutyrat	74
4.2.10	Glucose	77
4.2.11	Insulin	80
4.2.12	Gegenseitige Einflussnahmen der Konzentrationsverläufe von Glucose und Insulin	83
5	DISKUSSION	86
5.1	Versuchsbedingungen	86
5.2	Auswahl der Parameter	90
5.3	Informationsgehalt des altersabhängigen Konzentrations- verlaufes der untersuchten Parameter	91

5.4	Schlussbetrachtung	118
6	ZUSAMMENFASSUNG	120
7	SUMMARY	123
8	LITERATURVERZEICHNIS	125
9	TABELLENANHANG	141
10	DANKSAGUNG	158

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
DNA	deoxyribonucleic acid
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GIP	glucose-dependent insulinotropic polypeptide
GIT	Gastrointestinaltrakt
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GLP-1	glucagon-like peptide-1
GSH	Glutathion
HPLC	high performance liquid chromatography
IgG	Immunglobulin G
INS	Insulin
IRMA	immunoradiometric assay
MAT	Milchaustauscher
MDA	Malondialdehyd
MPO	Myeloperoxidase
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NH ₃	Ammoniak
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
RNA	ribonucleic acid
SCFA	short chain fatty acids

SD	Standardabweichung
TMR	total mixed ratio
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
v.a.	vor allem
VFA	volatile fatty acids
V. jugularis	Vena jugularis
VK	Variationskoeffizient
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die embryonale Magenentwicklung beginnt beim Rind mit der Bildung einer spindelförmigen Erweiterung des Darmrohres. Die deutliche Abgrenzung seiner 4 Magenabteilungen (Reticulum, Rumen, Omasum und Abomasum) ist bereits erreicht, wenn der Embryo eine Größe von 20 mm hat (SCHNORR & KRESSIN 2011). Dies ist im embryonalen Alter von etwa 5 bis 6 Wochen (WINTERS et al. 1942) der Fall. In dieser frühen Phase sind alle Magenabteilungen gleich groß. Während der Pansen sich zwischenzeitlich zur größten Abteilung heranbildet, setzt nach der Magendrehung eine starke Volumenzunahme am Labmagen ein, sodass dieser zur Zeit der Geburt die drei Vormägen an Größe übertrifft (SCHNORR & KRESSIN 2011).

Das Gewicht des Labmagens macht beim neugeborenen Kalb 55-60 % der gesamten Magenanlage aus (DAVIS & DRACKLEY 1998; MARTENS 2010a). In den ersten Lebensmonaten verändern sich bei zunehmender wiederkäuergerechter Fütterung die Gewichtsverhältnisse erheblich, sodass der Anteil der Vormägen am Gewicht aller Magenabteilungen nach Abschluss dieser Entwicklung 80-90 % beträgt (MARTENS 2010a).

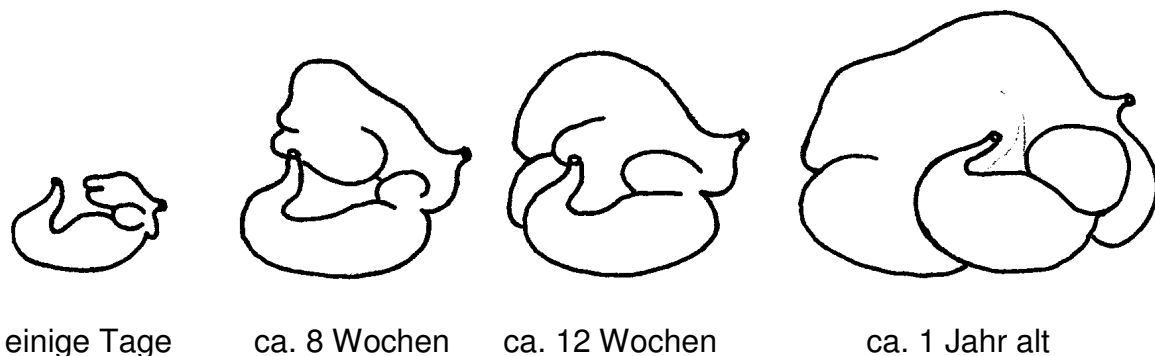


Abb. 1: Entwicklung der verschiedenen Magenabteilungen des Rindes vom Saugkalb zum Wiederkäuer. Modifiziert nach SCHRAG & SINGER (1987).

Da die Vormägen beim ausschließlich mit Milch gefütterten Kalb unvollständig entwickelt und ohne physiologische Funktion sind (TAMATE et al. 1962), kann es in der ersten Zeit seines Lebens als funktioneller Monogastrier angesehen werden. Denn jede Form von Flüssignahrung (Milch bzw. Milchersatz) wird reflexgesteuert

unter Umgehung der Vormägen über die Schlundrinne direkt in den Labmagen geleitet.

Während des Übergangszustandes von der alleinigen Flüssig- zur Festnahrung verändern sich digestive und metabolische Abläufe dahingehend, dass sich aus dem funktionellen Monogastrier allmählich ein Wiederkäuer entwickelt (HUBER 1969). Für diese Entwicklung sind neben mechanischen Stimuli durch strukturiertes Futter insbesondere die durch die einsetzende Fermentation entstehenden, wegen der pH-Verhältnisse im Pansen überwiegend anionisch vorliegenden, kurzkettigen Fettsäuren (vornehmlich Acetat, Propionat und Butyrat) als ursächlich anzusehen (MARTENS 2010a). Das Fassungsvermögen des Reticulorumen und des gesamten Magens ist bei 12 Wochen alten Kälbern, die Milch, Heu und Getreide bekommen haben, doppelt so groß wie bei den Kälbern, die ausschließlich Milch erhalten haben (TAMATE et al. 1962). Die Größe des Labmagens bleibt jedoch weitgehend unbeeinflusst von der Art der Nahrung (WARNER et al. 1956). Gibt man eine inerte Masse wie z. B. Sägespäne oder Plastikschwämme in den Pansen, so können ein verstärktes Wachstum der Pansenmuskulatur (HARRISON et al. 1960) und ein größeres Fassungsvermögen (WARNER 1961) im Vergleich zu Kälbern, die nur Milch bekommen haben, festgestellt werden. Stellt man Kälber, die in den ersten 5 Lebenswochen ausschließlich Milch erhalten haben, plötzlich auf festes Futter um, so erreichen nach 1 Woche ca. 75 % der aufgenommenen Trockenmasse das Duodenum. Nach 4 Wochen sinkt dieser Wert auf ca. 50 % (THIVEND et al. 1979).

Tab. 1: Prozentuale Größenverteilung der verschiedenen Magenabteilungen des Rindes bei normaler Fütterung (Milch, Krafftutter, Heu). Nach CHURCH (1969).

	Alter in Wochen						
	0	4	8	12	16	20-26	34-38
Reticulorumen	38	52	60	64	67	64	64
Omasum	13	12	13	14	18	22	25
Abomasum	49	36	27	22	15	14	11

Auch das oberflächliche Epithel der Vormägen zeigt eine strukturelle und funktionelle Entwicklung. Ein Rinderpansen, z.B. mit einer Grundfläche von rund 1 m², bildet ca. 250.000 Zotten aus, die sich in Form, Länge, Verteilung und Dichte je nach Pansenareal z.T. erheblich unterscheiden. Die Zotten haben die Funktion einer Oberflächenvergrößerung und damit der Verbesserung der Resorption. Zudem wird, da die Zotten reichlich mit Blutgefäßen ausgestattet sind, die Temperatur im Kern

des Pansenbreis bei einer für die Mikroorganismen noch tolerablen Höhe von 39-40 °C aufrechterhalten (LIEBICH 2004; NICKEL et al. 2004). Die Pansenzotten sind strukturell keineswegs konstant, sondern unterliegen ernährungs- bzw. fermentationsbedingt morphologisch-funktionellen Adaptationsvorgängen. So induziert energiereiches, strukturarmes Futter innerhalb von ca. 4 bis 6 Wochen (DIRKSEN et al. 1984) das Wachstum der Zotten. Ändert sich das Futter in eine energiearme, strukturreiche Ration, so verkürzen sie sich (LIEBICH 2004). Die Bildung der Pansenzotten beginnt intrauterin im 5. Lebensmonat des Fetus als Wellungen der tieferen Epithellagen samt Basalmembran und Lamina propria (ARIAS et al. 1978). Postnatal ist die Entwicklung der Zotten von der Art der Nahrung abhängig. Dabei stellt eine gemischte Futtermischung von Kraftfutter und Heu die intensivste Stimulierung dar (KIRCHGEBNER et al. 2008). Bei einem aktiv fermentierenden Pansen wird, besonders durch die Endprodukte Propion- und Buttersäure als chemischer Reiz, die Entwicklung der Pansenzotten angeregt (FLATT et al. 1958; JESSE et al. 1995). Bei erwachsenen Wiederkäuern stimuliert die intraruminale Gabe von Butyrat die mitotische Aktivität der ruminalen Mucosa (JESSE et al. 1995).

Bei der Entwicklung zum Wiederkäuer spielt die mikrobielle Besiedelung des Reticulorumen eine bedeutende Rolle. Der Pansen eines neugeborenen Kalbes ist steril, aber bereits nach dem 1. Lebenstag lassen sich, vornehmlich aerobe, Bakterien nachweisen (QUIGLEY 2001). Durch oralen Kontakt mit der Zitze und durch das Belecken des Muttertieres, sowie durch Umweltkontakte und die Nahrungsaufnahme kommt es zur Besiedelung mit Bakterien, Protozoen und Pilzen. Die Beziehung zwischen dem Wirtstier und den Mikroorganismen stellt eine Symbiose dar, wobei der Wiederkäuer insbesondere von den mikrobiellen Fermentations- und Syntheseleistungen profitiert (BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Durch den mikrobiellen Abbau von pflanzlichen komplexen Kohlenhydraten im Zellinneren (Stärke) und in der Zellwand (Cellulose, Pectine, Hemicellulosen) und nachfolgender anaerober Glykolyse der freigesetzten Monosaccharide werden kurzkettige Fettsäuren, vornehmlich Acetat, Propionat und Butyrat, gebildet, die mehrheitlich bereits über die Vormagenwand resorbiert werden und so systemisch dem Rind als Substrat für die Gluconeogenese (Propionsäure), für die Fettsäuresynthese (Acetat, Butyrat) oder für den Energiestoffwechsel (Acetat,

Butyrat) dienen (DIRKSEN 1981; BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Die Resorption von volatile fatty acids (VFA) findet unabhängig von Alter oder Fütterung der Kälber statt, allerdings hängt das Ausmaß dieser Resorption von der Produktion von VFA ab und dies wiederum von der Aufnahme festen Futters (THIVEND et al. 1979). Im Pansen befindet sich eine Vielzahl von verschiedenen Bakterienarten, von Protozoen und Pilzen (BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Welche Arten vorherrschen, ist vom Futter abhängig: Ist der Anteil von intrazellulären, löslichen Kohlenhydraten in der Ration hoch, stellt sich auf Grund der schnellen Fermentation und dem raschen Anfall von freien Fettsäuren eine pH-Absenkung (< 6,0) im Pansen ein, welche das Wachstum der bevorzugt Stärke abbauenden Mikroorganismen (=amylolytische Flora) fördert und das der cellulolytischen Flora beeinträchtigt. Letzteres wird dadurch begünstigt, dass stärke- und zuckerreiche Futterbestandteile arm an Strukturkohlenhydraten sind, folglich weniger wiedergekaut werden, und dadurch auch weniger puffernder Speichel in den Pansen gelangt (DIRKSEN 1981). Mittels mikrobieller Verdauungs (Proteasen)- und Stoffwechsellzyme (z.B. Desaminasen) können im Pansen auch Futterproteine u.a. N-haltige Futterbestandteile zu Aminosäuren bzw. zu NH_3 und Kohlenwasserstoff restlos abgebaut werden (BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Über das ständig stattfindende, energieabhängige mikrobielle Wachstum wird aus diesen mikrobiellen Spaltprodukten Mikrobenprotein (im Mittel zu 70 % aus NH_3 und zu 30 % aus Aminosäuren (M. STANGASSINGER, persönliche Mitteilung, 2012)) gebildet, das dem Rind bei Verdauung derselbigen zur Verfügung steht (ARUI 1993). Futterfette – in Grünpflanzen hauptsächlich Galaktolipide (70-80 %) und Phospholipide (15-30 %) (DÖRMANN & BENNING 2002) – können durch mikrobielle Enzyme (v.a. Lipasen und Phospholipasen) gespalten werden. Die dabei freigesetzten, in Grünpflanzen reichlich vorhandenen ungesättigten Fettsäuren werden anschließend isomerisiert und hydrogeniert, sodass weitgehend gesättigte Fettsäuren den Pansen verlassen. Ein unverändert hoher Anteil von ungesättigten Fettsäuren im Pansen würde das mikrobielle Wachstum deutlich hemmen und dadurch auch die Verdaulichkeit von Strukturkohlenhydraten erheblich reduzieren, mit Rückgang der Futteraufnahme (wegen des sich langsamer leerenden Pansens) in der Folge (DIRKSEN 1981; BREVES & LEONARD-MAREK 2010).

Diese umfassenden, ruminal mikrobiell verursachten Veränderungen von Futterinhaltsstoffen während der Entwicklung vom Milchkalb zum adulten Wiederkäuer bringen auch weitreichende metabolische Anpassungen bzw. Veränderungen mit sich. Aus diesem Grund ist zu erwarten, dass anhand des Konzentrationsverlaufes spezifischer Stoffwechselfparameter (Metabolite, Hormone) im Blut während der ersten Lebenswochen diese Veränderungen, die ihren Ursprung in der funktionellen Entwicklung des Vormagensystems haben, verfolgt und sichtbar gemacht werden können. Bisherige Untersuchungen haben sich bereits mit einigen dieser Parameter beschäftigt und auch belegen können, dass eine Konzentrationsänderung im Blut mit fortschreitender Vormagenentwicklung stattfindet. Allerdings sind diese Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen, wie z.B. einer kontrollierten Fütterung, durchgeführt worden. Die Frage ist nun aber, ob diese Erkenntnisse auch auf Feldbedingungen, und damit auf eine praktische Anwendung außerhalb der Wissenschaft, übertragbar sind. Aus diesem Grund wurden in dieser Arbeit die Blutproben von Tieren genommen, die in einem aus der Praxis gegriffenen, landwirtschaftlichen Betrieb aufwachsen und keinerlei Sonderbehandlung erhalten. Sie wurden, wie auf diesem Betrieb üblich, gehalten und gefüttert. Dadurch ist natürlich, auf Grund der im Gegensatz zu standardisierten Bedingungen vielfältigeren äußeren Einflüsse, von vorneherein eine größere Variabilität vorprogrammiert. Aber gerade deshalb ist es interessant, ob eine „Beobachtung“ der funktionellen Vormagenentwicklung mithilfe dieser Blutwerte auch unter üblichen Praxisbedingungen möglich ist.

2 LITERATURÜBERSICHT

Im Rahmen dieser Feldstudie wurden neben dem Körpergewicht einige Parameter aus dem Blutplasma von Kälbern in verschiedenen Altersklassen bestimmt. Unter diesen Parametern befinden sich Nährstoffe (z.B. Glucose), Stoffwechselmetabolite der Kälber (z.B. Pseudouridin), Stoffwechselmetabolite aus pflanzlichen Futterinhaltsstoffen (z.B. Hippursäure), Stoffwechselmetabolite aus mikrobiellen Produkten (z.B. Allantoin) und Hormone (z.B. Insulin). Im folgenden Abschnitt sollen diese Parameter nun kurz vorgestellt und ein Einblick in deren bisherige „diagnostische“ Anwendung als ruminale bzw. metabolische Funktionsparameter gegeben werden.

2.1 Körpergewicht

Bei der Geburt wiegt ein Kalb in der Regel zwischen 35 und 45 kg. Einflussfaktoren für ein unterschiedliches Geburtsgewicht sind u.a. die Rasse, das Geschlecht des Kalbes, das Alter und das Körpergewicht des Muttertieres vor der Geburt oder die Trächtigkeitsdauer (REYNOLDS et al. 1980). Bei einer Untersuchung in der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel wurde von 4325 weiblichen Kälbern der Rasse Deutsch Holstein das Geburtsgewicht ermittelt. Das leichteste Kalb wog dabei 25 kg, das schwerste 63 kg. Das mittlere Gewicht betrug $41,4 \pm 4,6$ kg (KALM 2003). QUIGLEY et al. (1991) ermittelten in ihren Versuchen mit weiblichen Deutsch Holstein Kälbern ganz ähnliche Werte: 41,1 kg. Bei Fleckviehkälbern ist das Geburtsgewicht etwas höher. EGLI & BLUM (1998) wogen 10 männliche und 9 weibliche Fleckviehkälber nach der Geburt. Das Gewicht schwankte zwischen 43 und 53 kg, wobei der Mittelwert bei 47 ± 1 kg lag. Bei 24 männlichen Jersey Kälbern lag das Geburtsgewicht bei 25,48 kg (KLOTZ & HEITMANN 2006).

Mit dem Heranwachsen der Kälber findet natürlicherweise eine fortschreitende Körpergewichtszunahme statt. Maßgeblich beeinflussend wirkt hier die Fütterung. HUGI & BLUM (1997) haben das Körpergewicht von 10 weiblichen Kälbern (7 Fleckvieh/Deutsche Rotbunte, 1 Deutsche Schwarzbunte und 2 Braunvieh) im Alter von 4 bis 18 Lebenswochen verfolgt. Gefüttert wurden die Tiere mit Milch (bis zur Entwöhnung Ende der 15. Lebenswoche), Heu ad libitum und Kälberstarter

(1,5 kg/Kalb/Tag). Die Tiere zeigten kontinuierliche Körpergewichtszunahmen von ca. 65 kg in der 4. Lebenswoche auf ca. 145 kg in der 18. Lebenswoche.

2.2 Allantoin

Alle kernhaltigen Zellen sind zur de novo-Biosynthese von Purinnucleotiden imstande. Allerdings ist diese Synthese sehr energieaufwendig und einige Gewebe, z.B. das ZNS, haben hierfür zudem eine schlechte Enzymausstattung (LÖFFLER et al. 2007). Deshalb werden ca. 80-90 % (HORN 2009) der Purinbasen über ein Recycling, den Salvage-Pathway, wiederverwertet und in die entsprechenden Mononucleotide umgewandelt. Werden doch Purinbasen abgebaut, entsteht über einige Zwischenmetabolite Harnsäure, die beim Rind durch das Enzym Urikase zum End- und Ausscheidungsprodukt Allantoin wird (siehe Abbildungen 2.2.1 und 2.2.2).

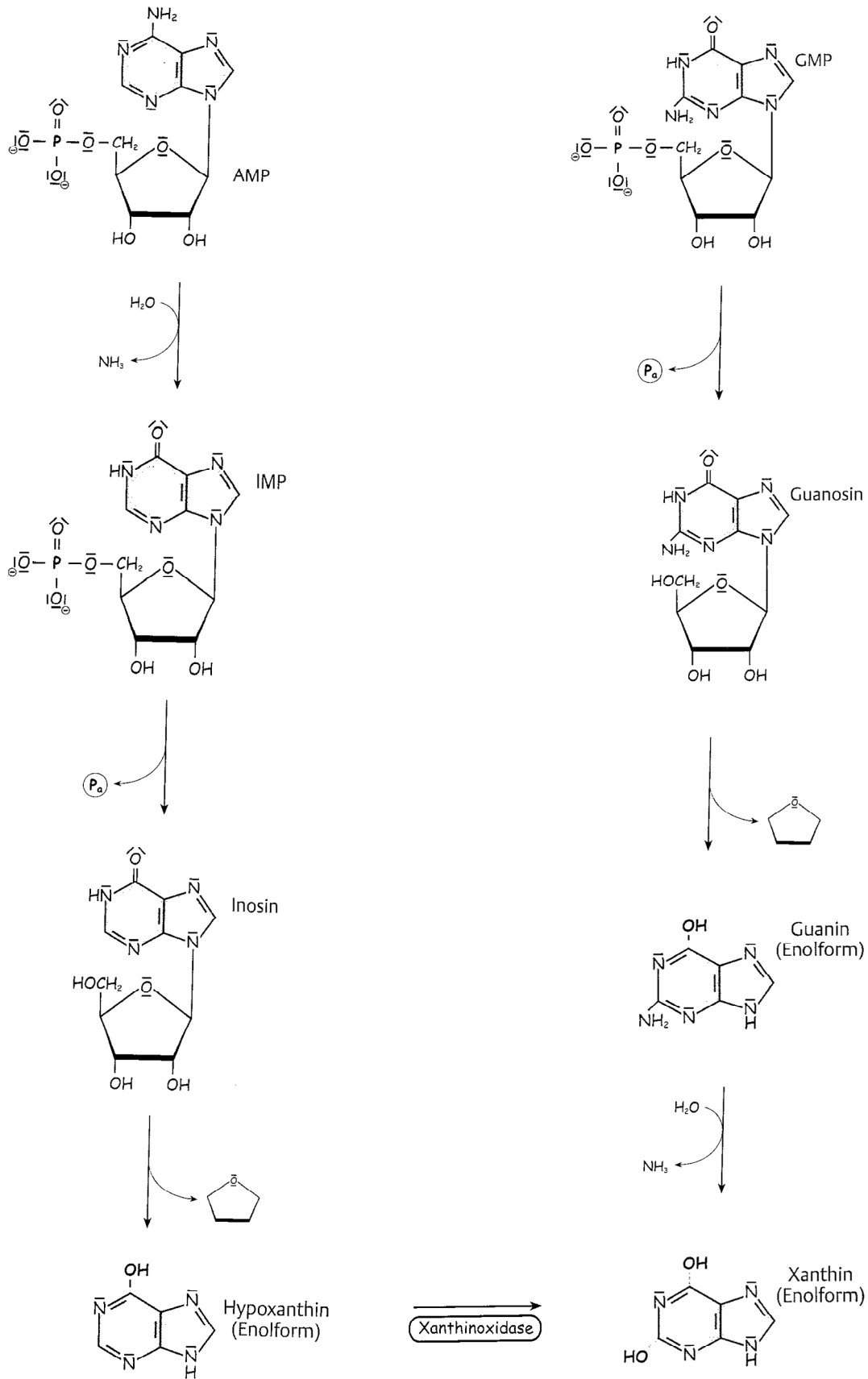


Abb. 2.2.1: Abbau der Purinnucleotide AMP und GMP bis auf die Stufe des Xanthins. Modifiziert nach HORN (2009).

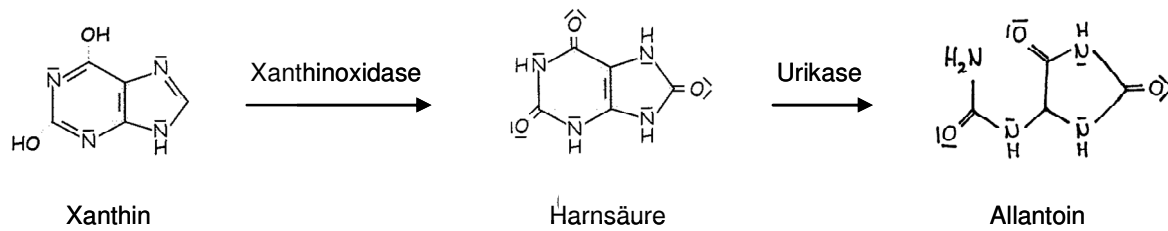


Abb. 2.2.2: Abbau des Xanthins bis auf die Stufe des Allantoins.

Allantoin wird hauptsächlich über den Harn ausgeschieden. Es ist aber auch eine Abgabe über die Milch (TIEMEYER et al. 1984) und mit dem Speichel (FUNABA et al. 1995) nachgewiesen. Allerdings sind die anteiligen Mengen an der Gesamtallantoinausscheidung in der Milch von Kühen mit 0,6-2,4 % (GIESECKE et al. 1994), abhängig von der Höhe der Milchleistung (STANGASSINGER et al. 1995), und im Speichel von Schafen mit < 1 % (KAHN & NOLAN 2000) sehr gering.

Im Blut zirkulierendes Allantoin stammt aus dem Abbau von endogenen Purinbasen und von Purinbasen, die aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT) resorbiert wurden. Das Rind zeigt, im Gegensatz z.B. zum Schaf, eine hohe Aktivität der Xanthinoxidase im Intestinum (AL-KHALIDI & CHAGLIASSIAN 1965; STANGASSINGER et al. 1995). Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von Hypoxanthin zu Xanthin und weiter zu Harnsäure und verhindert damit ein Recycling des Hypoxanthins. Aus dieser hohen Aktivität der Xanthinoxidase im Intestinum des Rindes kann geschlossen werden, dass die exogenen Purine während der Resorption komplett abgebaut werden und so dem Gewebe nicht mehr für eine Wiederverwertung zur Verfügung stehen (CHEN & ORSKOV 2003).

Die Nucleinsäuren im GIT des Wiederkäuers sind von verschiedener Herkunft (MCDONALD & WARNER 1974): 1) aus der Nahrung; 2) aus Sekreten und abgeschilferten Mucosazellen des Wiederkäuers und 3) aus der Mikroflora des Vormagensystems. Die Menge an Nucleinsäuren aus der Nahrung bewegt sich zwischen 1 und 50 g/kg Trockenmasse (MCALLAN 1982). Auch freie Purine kommen in einigen Pflanzen vor (FERGUSON & TERRY 1954). Diese aus der Nahrung stammenden Nucleinsäuren und deren Derivate werden jedoch rasch, bereits im Pansen, abgebaut und tragen nicht zu der großen Menge an Nucleinsäuren bei, die mit dem Chymus den Dünndarm erreichen (SMITH & MCALLAN 1970; MCALLAN 1982). Der Anteil an Nucleinsäuren, der aus Sekreten

und abgeschilferten Mucosazellen des Wiederkäuers stammt, ist sehr gering (MCALLAN 1982). Durch den mehr oder minder kontinuierlichen Fluss der Ingesta gelangt auch beständig ein Teil der Mikroben aus dem Pansen in den Dünndarm, wo sie verdaut und resorbiert werden. Nucleinsäuren werden durch Enzyme des Pankreassekrets und der Bürstensaummembran zu Nucleosiden, Purin- und Pyrimidinbasen, Pentosen und Ribose-1-Phosphat verdaut und anschließend im Dünndarm resorbiert (WOLFFRAM & SCHARRER 2010), sodass Purinbasen nach deren Abbau auch einen Teil des im Blut messbaren Allantoins ausmachen können. Durch die Analyse von Dünndarminhalt von geschlachteten Stieren konnte man auf den Grad der Verdauung von Nucleinsäuren schließen (MCALLAN 1980). Ca. 89 % der Ribonucleinsäure (RNA) wird zwischen Abomasum und caudalem Ende des Ileums, und zwar vorwiegend bereits im proximalen Viertel des Dünndarms, verdaut. Desoxyribonucleinsäure (DNA) hingegen wird auch noch in den distaleren Abschnitten des Dünndarms verdaut und erreicht eine Abbaubarkeit von ca. 80 %. Der Abbau der Nucleinsäuren ist begleitet von dem vorübergehenden Erscheinen von Nucleosiden, die allerdings bis zum Ende des Ileums wieder komplett verschwunden sind.

Durch Untersuchungen an Schafen haben TOPPS & ELLIOT (1965) herausgefunden, dass ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration von Nucleinsäuren im Pansen und der Menge an Purinderivaten (Harnsäure und Allantoin), die über den Harn ausgeschieden werden, besteht. Über die renale Ausscheidung von Purinen und Purinmetaboliten lässt sich, aufgrund des hohen und relativ konstanten Anteils von Nucleinsäuren an der mikrobiellen Masse, die mikrobielle Proteinbiosynthese im Pansen schätzen (GIESECKE et al. 1984; BICKEL-BAUMANN & LANDIS 1986; STANGASSINGER et al. 1995). Allerdings stellte sich bei einigen Untersuchungen heraus, dass die Wiederfindung des Plasmaallantoins im Urin erheblich variiert. So fanden CHEN et al. (1991) 72 % des intravenös injizierten Allantoins im Urin von Schafen wieder, KAHN & NOLAN (2000) hingegen kamen auf 94 %. PRASITKUSOL et al. (2002) gingen den Fragen nach, ob die Höhe der Futteraufnahme oder die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) Einfluss auf die Wiederfindung von Plasmaallantoin im Urin haben. Auch in ihren Untersuchungen variierte das intravenös injizierte stark von dem im Urin wiedergefundenen [¹⁴C]-Allantoin zwischen den einzelnen Individuen; zwischen 66 und 95 %. Allerdings fanden sie keinen Zusammenhang zwischen der Wiederfindung

von Allantoin im Urin und der Höhe der Futteraufnahme. Auch konnten sie keine Abhängigkeit der Wiederfindung von der GFR feststellen, obwohl in einer ihrer Untersuchungen die Tiere mit einer höheren GFR eine tendenziell höhere Wiederfindung des [^{14}C]-Allantoins im Urin zeigten. Aufgrund der großen Variation der Wiederfindungsrate sowohl zwischen verschiedenen Rinderrassen als auch zwischen individuellen Tieren, könnte die mikrobielle Proteinbiosynthese im Pansen beträchtlich unter- oder überschätzt werden (PRASITKUSOL et al. 2002).

Die Allantoinausscheidung über die Milch ist in großem Umfang abhängig vom mikrobiellen Stickstoff der das Duodenum erreicht. Da sie mögliche Veränderungen in der Effizienz der Verdauung und Absorption der mikrobiellen Masse widerspiegelt, stellt das Milchallantoin einen Parameter für die Bioverfügbarkeit von mikrobiellem Stickstoff dar (STANGASSINGER et al. 1995).

Aus dem Verlauf des Tagesprofils von Allantoin im Blutplasma von (Zwerg)ziegen ließ sich schließen, dass die Konzentration eng mit der Aufnahme an verdaulicher Energie und mit den im Pansen davon abhängig ablaufenden mikrobiellen Syntheseprozessen verbunden ist, also beim Niveau der Allantoinkonzentration im Blut eine direkte Abhängigkeit von der mikrobiellen Aktivität der Pansenfunktion besteht (ROSSKOPF et al. 1991).

Im Plasma von Kühen der Rassen Deutsches Fleckvieh ($n=6$; Milchleistung: $18,12 \pm 5,10$ kg/Tier/Tag) und Deutsche Schwarzbunte ($n=12$, Milchleistung: $23,83 \pm 6,80$ kg/Tier/Tag) konnte z.B. eine Allantoinkonzentration von $370,6 \pm 79,1$ $\mu\text{mol/l}$ gemessen werden (ROSSKOPF et al. 1991). FUNABA et al. (1995) haben den Verlauf der Allantoinkonzentration im Blut bei Kälbern nach der Entwöhnung (5. Lebenswoche) verfolgt und dabei eine zunehmende Abnahme mit dem Alter festgestellt: Jeweils nach der Entwöhnung: 1 Woche 324 $\mu\text{mol/l}$, 6 Wochen 261 $\mu\text{mol/l}$, 11 Wochen 208 $\mu\text{mol/l}$, 19 Wochen 167 $\mu\text{mol/l}$. ARUI (1993) hat das Plasma-Allantoin in einer standardisierten und kontrollierten Untersuchung bei heranwachsenden Lämmern während der reinen Milch- bzw. Milchaustauscherfütterung, der Umstellungsphase und der reinen Festfutterphase gemessen und dabei zwischen einer früh (45. Lebenstag) und einer spät (101. Lebenstag) entwöhnten Gruppe unterschieden. Während der Umstellungsphase (mit 75,79 $\mu\text{mol/l}$ bei der früh entwöhnten bzw. mit 53,34 $\mu\text{mol/l}$ bei der spät entwöhnten Gruppe) lässt sich, ausgehend von der reinen Milch- bzw.

Milchaustauscherphase (mit 48,68 $\mu\text{mol/l}$ bzw. mit 42,41 $\mu\text{mol/l}$), tendenziell eine Zunahme des Allantoins im Blutplasma verzeichnen. In der Festfutterphase erreichte dieser Anstieg mit 107,14 $\mu\text{mol/l}$ bzw. mit 158,78 $\mu\text{mol/l}$ ein signifikant erhöhtes Niveau.

2.3 Hippursäure

Mit dem Urin von Pflanzenfressern werden erhebliche Mengen an aromatischen Säuren ausgeschieden. Dabei handelt es sich vorwiegend um Benzoesäure und Phenylacetylsäure, die überwiegend als Glycinkonjugate in Form von Hippursäure und Phenylacetursäure ausgeschieden werden (MARTIN 1969; 1973). Daneben existiert auch die Konjugation mit Glucuronsäure sowie die Ausscheidung als freie Säure (JABLONKA 1996; PAGELLA et al. 1997). Benzoesäure wiederum stammt hauptsächlich von phenolischen Verbindungen in Futterpflanzen (JABLONKA 1996); 97 % der bei Pflanzenfressern renal ausgeschiedenen Hippursäure stammt aus exogener Herkunft (MARTIN 1969).

Phenole sind aromatische Verbindungen, die mindestens eine Hydroxylgruppe (oder deren funktionelle Derivate) am aromatischen Ringsystem tragen. Im Gegensatz zu Tieren sind Pflanzen in der Lage aromatische Ringsysteme de novo auf verschiedenen Wegen – die wichtigsten sind der Shikimat-Weg und der Acetat-Malonat-Weg – aufzubauen. Die primären Produkte aus dem Shikimatweg sind Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan. Diese 3 aromatischen Aminosäuren, aber auch Intermediate des Shikimat-Wegs, sind Ausgangspunkt weiterer Stoffwechselwege, deren Ergebnis eine große Mannigfaltigkeit phenolischer Verbindungen ist (JÄGER et al. 2003; WEILER & NOVER 2008). Als einige wichtige Gruppen sind hier die einfachen Phenole (z.B. Hydrochinon), die Phenolcarbonsäuren (z.B. Benzoesäure, Gallussäure), die Phenylpropane (z.B. Zimtsäure) und die Flavonoide zu nennen.

Obwohl Lignin durch die kovalenten Bindungen – vornehmlich Kohlenstoff-Kohlenstoff- und Etherbindungen (SÜDEKUM & HASSELMANN 1989) – seiner monomeren Bausteine, den Zimtalkoholen p-Cumarylalkohol, Coniferylalkohol und Sinapylalkohol, als enzymatisch nur schwer abbaubar (WEILER & NOVER 2008) und unverdaulich (KAMPHUES et al. 2004) gilt, wird Lignin doch von einigen Autoren als Hauptphenolquelle in Futterpflanzen angegeben (JUNG & FAHEY 1983;

JABLONKA 1996). Diese Autoren sprechen von „core-Lignin“ als dem unverdaulichen Anteil und „non-core-Lignin“ als dem verdaulichen. Das „non-core-Lignin“ sorgt für die Quervernetzung der hochkondensierten Phenylpropaneinheiten, des „core-Lignins“, mit den Zellwandkohlenhydraten, vornehmlich der Hemicellulosen (SÜDEKUM & HASSELMANN 1989). Es besteht hauptsächlich aus den 2 phenolischen Zimtsäuren p-Cumarsäure und Ferulasäure, die auch quantitativ die wichtigsten phenolischen Monomere in Gräsern und Leguminosen darstellen (HARTLEY & JONES 1978). Neben p-Cumarsäure und Ferulasäure existieren noch weitere phenolische Monomere, z.B. p-Hydroxybenzoesäure oder Vanillinsäure, die als Bindeglied fungieren (JUNG et al. 1983) (siehe Abbildung 2.3).

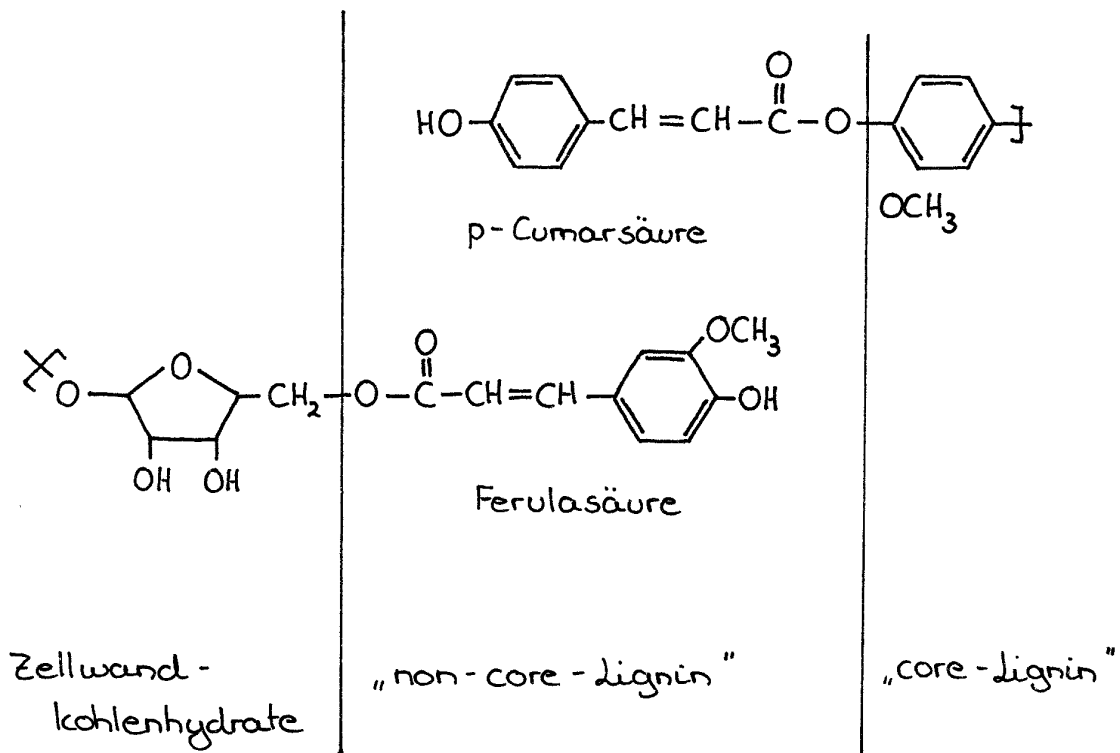


Abb. 2.3: Schematische Darstellung der Bindung von p-Cumarsäure und Ferulasäure zum „core-Lignin“ und den Zellwandkohlenhydraten

Lignin hat von allen in Futtergräsern und -leguminosen vorkommenden Verbindungen den größten negativen Einfluss auf die Verdaulichkeit der Zellwand, sowie der Trockenmasse und der organischen Masse. Durch unterschiedliche Ligningehalte variiert die Verdaulichkeit der Trockenmasse zwischen 27 und 88 %, die der Cellulose und Hemicellulosen zwischen 68 und 93 % (SÜDEKUM &

HASSELMANN 1989). Es werden verschiedene Mechanismen für diese herabgesetzte Verdaulichkeit verantwortlich gemacht, darunter die Inkrustierung, Effekte auf die Mikroben im Verdauungstrakt und die Bildung von Lignin-Polysaccharid-Komplexen (JUNG & FAHEY 1983). Aber auch andere Zellwandbestandteile, v.a. phenolische Säuren und Acetylgruppen, können die Verdaulichkeit von Cellulose und Hemicellulosen beeinflussen (SÜDEKUM & HASSELMANN 1989). In Gräsern sind die meisten phenolischen Säuren über Esterbindungen an Arabinosereste in den Seitenketten von Arabinoxylasen der Hemicellulosen gebunden (SMITH & HARTLEY 1983). Bei einer Alkalibehandlung von Raufuttern lösen sich diese Esterbindungen: Die Verdaulichkeit der organischen Masse wird so deutlich gesteigert (JACKSON 1977) und erhebliche Mengen phenolischer Säuren gehen in Lösung (HARTLEY & JONES 1978). Die Anzahl von an Xyloseeinheiten gebundenen Acetylgruppen hat einen Effekt auf die Verdaulichkeit von Zellwandkohlenhydraten (BACON et al. 1975). So erhöhte sich in Untersuchungen von MORRIS & BACON (1977) die in-situ-Abbaubarkeit um bis zu 11 Prozentpunkte nach Deacetylierung der Zellwände. Freie Phenole reduzieren die Futteraufnahme. In vitro hemmen Phenolmonomere Verdauungsenzyme von Säugetieren. Durch die Hemmung des Wachstums cellulolytischer und proteolytischer Bakterien (phenolische Verbindungen wurden lange als Konservierungsmittel genutzt) im Pansen behindern sie die Abbaubarkeit von organischem Pflanzenmaterial. Durch ihre Bindung an Nahrungsproteine und -kohlenhydrate verhindern sie zusätzlich deren Verwertung (JUNG & FAHEY 1983; JABLONKA 1996).

JABLONKA (1996) ermittelte eine mittlere, über 24 Stunden gemessene, Hippursäurekonzentration im Plasma 2,5 Jahre alter Ochsen (n=5) von $72,83 \pm 29,83$ $\mu\text{mol/l}$. ARUI (1993) hat die Hippursäurekonzentration im Blutplasma bei heranwachsenden Lämmern gemessen. Dabei haben sich ab dem Zeitpunkt der Umstellung von Milch bzw. Milchaustauscher auf festes Futter messbare und deutlich zunehmende Konzentrationswerte gezeigt. Allerdings ließen sich in der Gruppe der spätentwöhnten Tiere bereits während der reinen Milchaustauscherphase geringe Hippursäurekonzentrationen (von $9,19 \pm 1,48$ $\mu\text{mol/l}$ bis $12,68 \pm 0,62$ $\mu\text{mol/l}$) nachweisen. Erklärt wird dies durch das mögliche Vorhandensein von phenolhaltigen Aminosäuren wie Phenylalanin und Tyrosin oder auch direkt von Hippursäure im

Milchaustauscher. Nach der Umstellung auf ausschließlich festes Futter (73. bis 100. Lebenstag) stieg die Hippursäurekonzentration im Plasma dieser spät entwöhnten Lämmer bis zum 128. Lebenstag auf $80,78 \pm 19,28 \mu\text{mol/l}$ an.

2.4 Pseudouridin

Neben den häufig vorkommenden Pyrimidinbasen Cytosin, Thymin und Uracil gibt es auch sogenannte „seltene Basen“, die nur in geringen Mengen in den Nucleinsäuren vorkommen (HORN 2009). 5-Ribosyluracil (Pseudouridin) gilt als die am häufigsten vorkommende (und 1956 als erstes entdeckte) seltene Base der RNA (GROSJEAN 2005). Pseudouridin ist Bestandteil aller tRNAs und rRNAs und der meisten snRNAs sowie snoRNAs (CHARETTE & GRAY 2000). Beim Abbau dieser RNAs entsteht als Endprodukt u.a. Pseudouridin (SANDER et al. 1986). Dieses wird nicht wiederverwertet (SCHÖCH et al. 1982), sondern über den Harn ausgeschieden (COLONNA et al. 1983; SANDER et al. 1986). Durch die Pseudouridinkonzentration im Blutplasma lässt sich auf den endogenen RNA-Umsatz schließen, wodurch eine Beurteilung anaboler und kataboler Zustände ermöglicht wird (ARUI 1993; PUCHALA et al. 1993).

ROSSKOPF et al. (1991) haben bei Milchkühen Pseudouridinkonzentrationen im Blutplasma von $6,01 \pm 1,58 \mu\text{mol/l}$ gefunden. Aus dem Verlauf des Tagesprofils von Pseudouridin im Plasma von Pansen fistulierten Ochsen ließ sich ein Mittelwert von $5,03 \mu\text{mol/l}$ berechnen, nachdem keine Abhängigkeit von der Fütterung zu erkennen war (ARUI 1993). Erst 34 Stunden nach dem Absaugen des Panseninhalts stieg der Wert auf $7,43 \mu\text{mol/l}$, was auf einen gesteigerten Nucleinsäureumsatz schließen lässt. Bei Versuchen an Lämmern konnte ARUI (1993) keinen Einfluss der Futterumstellung (von Milch bzw. Milchaustauscher auf festes Futter) erkennen, sodass sie daraus geschlossen hat, dass Pseudouridin aus endogener Herkunft stammt. Allerdings hat sich eine negative Korrelation zwischen der Pseudouridinkonzentration im Blut und dem zunehmenden Körpergewicht ergeben. Offensichtlich rühren die hohen Konzentrationen von einer starken Wachstumsphase her. Auch PUCHALA et al. (1993) haben bei der Untersuchung der renalen Pseudouridinausscheidung an Schafen und Rindern eine Altersabhängigkeit festgestellt. So war die Ausscheidung bei jungen Tieren höher als bei älteren.

2.5 Melatonin

LERNER et al. (1958) haben 1958 einen aktiven Faktor aus der Zirbeldrüse des Rindes isoliert, der die Hautfarbe aufhellen kann und das melanocytenstimulierende Hormon hemmt. Diesen Faktor nannten sie Melatonin. Für die Synthese tritt die Aminosäure Tryptophan aus dem Blut in die Pinealocyten der Zirbeldrüse über und wird hier über die Zwischenstufen 5-Hydroxytryptophan, Serotonin und N-Acetylserotonin in Melatonin (=N-acetyl-5-methoxytryptamin) umgewandelt (MOTLIVA et al. 2001). Die Bildung in der Zirbeldrüse und Ausschüttung ins Blut (REITER 1993) und in die cerebrospinale Flüssigkeit (TRICOIRE et al. 2002) folgt einer circadianen Rhythmik, wobei Melatonin als Mediator der Information Dunkelheit gilt (HARDELAND 2005). Während der Nacht werden Maximalwerte erreicht; Licht hemmt die Produktion (CLAUSTRAT et al. 2005). Die Dauer des erhöhten Melatoninspiegels während der Nacht ist proportional zu der Dauer der Nachtlänge. Durch die unterschiedliche Tageslichtlänge wird dem Organismus so die Jahreszeit mitgeteilt (REITER 1993). Worauf der Körper genau reagiert, ist die Richtung in die sich die Dauer der erhöhten Melatoninkonzentration ändert (WILLIAMS et al. 1995). Neben der Zirbeldrüse wird Melatonin auch in anderen Geweben produziert. So produzieren die enterochromafinen Zellen des GIT eine nicht unerhebliche Menge. Die Konzentration von Melatonin im Gewebe des GIT ist 10-100 x höher als im Blut und mindestens 400 x höher als in der Zirbeldrüse (BUBENIK 2002). Der GIT trägt bedeutend, besonders tagsüber, zu dem im Blut zirkulierenden Melatonin bei (BUBENIK 2002). Weitere Produktionsorte sind die Retina, die Hardersche Drüse bei Nagern, die Tränendrüse, die Thrombocyten, Erythrocyten und Leukocyten, das Knochenmark und die Bauchspeicheldrüse (BIRKLE 1999; MOTLIVA et al. 2001; CLAUSTRAT et al. 2005; HARDELAND 2006).

Melatonin besitzt beim Wirbeltier eine große Zahl von Zielorganen und Zielzellen und vermittelt G-Protein-gekoppelt über die Rezeptor Subtypen MT₁, MT₂ und MT₃ (BARRENETXE et al. 2004) so auch vielfältige Wirkungen im Organismus: Der Schlaf wird durch Melatonin mitgesteuert. Es ist mitverantwortlich für den circadianen Rhythmus der Körpertemperatur. Es beeinflusst den Energiestoffwechsel. Es ist eines der stärksten körpereigenen Antioxidantien und Radikalfänger, es moduliert die Immunantwort, ist an der Genexpression beteiligt und es wirkt onkostatistisch. Zudem

ist es beteiligt an der Regulation der saisonalen Fortpflanzung sowie des Körpergewichtes. Melatonin, dessen Produktion mit dem Alter abnimmt, kann auch mit einer Reihe von pathologischen Situationen in Verbindung gebracht werden, wie z.B. dem Glaukom, neurologischen Störungen oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen (BROWN 1994; BIRKLE 1999; BARRENETXE et al. 2004; CLAUSTRAT et al. 2005). Melatonin vermittelt seine antioxidative und Radikalfänger-Wirkung auf verschiedenen Wegen. So vermag es zum Einen eine Reihe von reaktiven Spezies, die Schaden an allen Biomolekülen verursachen, direkt zu entgiften: Melatonin ist in der Lage Sauerstoff-basierte (z.B. das Hydroxyl-Radikal in das zyklische 3-Hydroxymelatonin), Stickstoff-basierte (z.B. Stickstoffmonoxid in N-Nitrosomelatonin) und Chlorid-basierte Radikale (z.B. Hypochlorige Säure in 2-Hydroxymelatonin) in unschädliche Produkte umzuwandeln. Zum Anderen fördert Melatonin die antioxidativen Abwehrmechanismen, indem es die Aktivität verschiedener antioxidativer Enzyme (z.B. Superoxid-Dismutase, Glutathion-Peroxidase, Glutathion-Reduktase oder Katalase) erhöht oder prooxidativer Enzyme (z.B. Stickstoffmonoxid-Synthase) hemmt. Eingelagert zwischen die polaren Köpfe der vielfach ungesättigten Fettsäuren in Zellmembranen, vermag Melatonin die Lipid-Peroxidation zu reduzieren (REITER et al. 2001). Die Umwandlung des Hydroxyl-Radikals, das im Körper kontinuierlich durch intrinsischen Sauerstoffverbrauch und extrinsischen oxidativen Stress produziert wird, spielt insofern eine bedeutende Rolle, als dass das Hydroxyl-Radikal die reaktivste und zytotoxischste reaktive Sauerstoffspezies und damit an der Entstehung vieler Krankheiten ursächlich beteiligt ist. Fallen im Körper vermehrt Hydroxyl-Radikale an, so entsteht auch vermehrt 3-Hydroxymelatonin. Da nun 3-Hydroxymelatonin über die Nieren ausgeschieden wird und im Urin nachweisbar ist, lässt es sich als Biomarker verwenden. Über die Bestimmung von 3-Hydroxymelatonin im Urin lässt sich also auf die Entstehung von Hydroxyl-Radikalen in vivo schließen (TAN et al. 1998). Es ist bekannt, dass Acetaminophen, das weit verbreitet als Analgetikum und Antipyretikum eingesetzt wird, in hohen Dosen leber- und nierentoxisch ist. ŞENER et al. (2003) haben Mäusen Acetaminophen appliziert und nach 4 und 24 Stunden die Alanin-Aminotransferase (ALT), die Aspartat-Aminotransferase (AST), Harnstoff und Kreatinin im Blut sowie Glutathion (GSH), Malondialdehyd (MDA), oxidierte Proteinlevels und die Myeloperoxidase (MPO) -Aktivität in Leber- und Nierengewebe gemessen. Bei ALT, AST, Harnstoff, Kreatinin, MDA, den oxidierten Proteinen und

MPO verzeichneten sie einen signifikanten Anstieg, GSH war vermindert. Bei einer Vorbehandlung mit Melatonin konnten diese Werte jedoch auf Kontrollniveau wiedereingestellt werden, d.h., Melatonin vermag die Acetaminophen-induzierte Leber- und Nierentoxizität zu reduzieren.

Neben den Vertebraten konnte Melatonin auch bei Evertebraten, Bakterien, Algen, Pflanzen und Pilzen nachgewiesen werden (HARDELAND & POEGGELER 2003). HATTORI et al. (1995) haben im Samen von Mais 1,3 ng/g, von Hafer 1,8 ng/g und von Rohrschwengel 5 ng/g Melatonin gefunden. Nachdem sie Pflanzen, die reich an Melatonin sind, an Hühner verfüttert haben, konnten sie einen erhöhten Blutmelatoninspiegel feststellen. Es sind für Melatonin keine morpho-physiologischen Barrieren bekannt, sodass es vom Blut aus Zugang zu allen Geweben - und innerhalb diesen zu allen subzellulären Räumen - hat (REITER et al. 2001). So kann Melatonin z.B. auch die Blut-Hirn-Schranke und die Placenta passieren. Nachdem 1995 zum ersten Mal Melatonin in einem Bakterium, *Rhodospirillum rubrum* (MANCHESTER et al. 1995), nachgewiesen wurde, kamen später noch weitere Bakterienspezies hinzu. *Rhodospirillum rubrum* ist eines der ältesten Spezies lebender Organismen, möglicherweise 2-3 Milliarden Jahre alt (MANCHESTER et al. 1995). Nachdem sich die Photosynthese entwickelt hat und das Sauerstofflevel gestiegen ist, waren möglicherweise bestimmte Indol-Verbindungen (wie Melatonin) dafür verantwortlich, dass Organismen wie *Rhodospirillum rubrum* einen Schutz gegenüber lebensbedrohenden Sauerstoff-Radikalen hatten, und so ein Fortbestehen dieser Spezies über einen so langen Zeitraum hinweg möglich war (MANCHESTER et al. 1995). Auch in Protozoen, z.B. *Tetrahymena pyriformis* (KÖHIDAI et al. 2002), wurde Melatonin gefunden.

Obwohl die nächtlichen Konzentrationen von Melatonin im Blut bei (einigen) neugeborenen Kälbern gegenüber den Tag-Konzentrationen bereits erhöht sind, lässt sich ab dem Alter von 1 Woche ein signifikanter Unterschied zwischen Nacht- und Tag- Werten feststellen (VALTONEN et al. 2003). Die vormittäglichen Werte liegen, sowohl bei Kälbern (STANISIEWSKI et al. 1988; VALTONEN et al. 2003), als auch bei adulten Rindern (ERIKSSON et al. 1998), um die 7 pg/ml. HEDLUND et al. (1977) haben bei 9 Monate alten Guernsey Kälbern Tagesmittelwerte von 19 ± 4 pg/ml gefunden.

2.6 Gesamtprotein

Albumin, Fibrinogen und verschiedene Globuline sind die hauptsächlichen Proteine im Blutplasma. Daneben kommen in kleineren Mengen auch andere Proteine wie z.B. Enzyme oder Hormone vor. Die Plasmaproteine haben vielfältige Funktionen im Körper: Den Transport verschiedenster Substanzen, die Pufferwirkung, Nährfunktion, Regulation des onkotischen Drucks, Beeinflussung der Blutviskosität und der Blutgerinnung und die Körperabwehr. Mit Ausnahme der Immunglobuline, die in den lymphatischen Organen gebildet werden, werden alle Plasmaproteine von der Leber synthetisiert. Die dafür benötigten Bausteine, die Aminosäuren, werden aus dem Blut aufgenommen und mithilfe der Ribosomen zu Proteinen zusammengesetzt (HORN 2009; GASSMANN & LUTZ 2010).

Beim Wiederkäuer wird ein großer Teil der Nahrungsproteine bereits im Pansen umgesetzt. Je nach Herkunft und Vorbehandlung der Futterproteine kann deren ruminale Abbaubarkeit zwischen 30 und annähernd 100 % schwanken. Proteolytische Enzyme der Mikroorganismen katalysieren den schrittweisen Abbau zu Aminosäuren, die größtenteils weiter zu Kohlenwasserstoffverbindungen und Ammoniak gespalten werden. Andererseits synthetisieren die Mikroben auch Proteine, nämlich die für ihren eigenen Gebrauch. Als Stickstoffquelle verwenden sie dazu die Aminosäuren aus Futterproteinen direkt und/oder den Ammoniak nach deren Desaminierung, sowie Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) -Verbindungen des Futters und endogene Stickstoff (N) -Quellen wie Mucoproteine und den Harnstoff des Speichels. Der Ertrag an im Pansen produziertem mikrobiellen Protein ist dann maximal, wenn die ruminal verfügbare Energie für diese Proteinsyntheseleistung der Mikroben ausreichend ist. Bei der postruminalen Verdauung der Mikroorganismen stehen diese mikrobiellen Proteine dem Wiederkäuer zur Verfügung indem sie im Labmagen und Dünndarm gespalten und als Aminosäuren, Di- und Tripeptide resorbiert werden (HAMMOND 1997; KIRCHGEBNER et al. 2008; BREVES & LEONARD-MAREK 2010).

Einige Autoren beschreiben einen Anstieg der Proteinkonzentration im Blutplasma mit dem Alter. STEINHARDT & THIELSCHER (2000) haben bei Kälbern (20 m, 18 w) die Gesamtproteinkonzentration im Alter von 15, 30, 60 und 90 Lebenstagen

gemessen und stellten dabei beständige Zunahmen der Mittelwerte von $46,7 \pm 7,5$ g/l bis auf $57,4 \pm 4,3$ g/l fest. Sie führten dies u.a. auf die Zunahme der Proteinsynthese in der Leber und in anderen Körpergeweben zurück. HUGLI & BLUM (1997) verzeichneten ebenfalls bei Kälbern zwischen der 4. und 10. Lebenswoche einen Anstieg der Konzentration des Plasmaproteins von anfänglich ca. 62 g/l auf ca. 72 g/l. Zwischen der 10. und der 18. Lebenswoche blieb das Proteinniveau bei diesen weiblichen Kälbern dann annähernd konstant. Bei LOHAKARE et al. (2012) blieben dagegen die Proteinwerte von Kälbern mit 60 g/l (35. Lebensstage), 64,5 g/l (112. Lebensstage) bzw. 63 g/l (150. Lebensstage) weitgehend konstant. In den Untersuchungen von EGLI & BLUM (1998) dagegen ist die Proteinkonzentration im Plasma zwar innerhalb des 1. Lebensstages von ca. 41 g/l auf ca. 56 g/l angestiegen, danach aber bis zum Ende ihres Versuchs am 84. Lebensstag konstant geblieben. Den raschen Anstieg innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt erklären sie mit der hohen Proteinaufnahme aus dem Kolostrum, insbesondere durch die Resorption von Immunglobulin G (IgG). Die Ergebnisse stammen von 19 Fleckviehkälbern in Mutterkuhhaltung. Auch KNOWLES et al. (2000) konnten einen raschen Anstieg des Gesamtproteins nach der Geburt feststellen. Allerdings fielen die Konzentrationen nach einem Maximum von ca. 67 g/l, am 6. Lebensstag, bis ca. 57 g/l, am 27. Lebensstag, um dann wieder allmählich anzusteigen. Nach WEISS & WARDROP (2011) liegt der Plasmaproteingehalt erwachsener Milchkühe bei 60-80 g/l.

2.7 Harnstoff

Bei der mikrobiellen Desaminierung von Aminosäuren und dem Abbau von anderen N-Quellen des Futters entsteht als primäres Abfallprodukt Ammoniak (NH_3). Der Teil, der nicht rasch in die mikrobielle Proteinsynthese eingeht, wird im Pansen überwiegend als NH_4^+ -Ion vorliegen und auch resorbiert werden. Um diesen wertlosen NH_3 -N ausscheiden zu können, wird er bei Säugetieren in der Leber mithilfe des Harnstoffzyklus in Harnstoff umgewandelt und dann entweder als harnpflichtige Substanz über die Nieren ausgeschieden oder er gelangt beim Wiederkäuer mit dem Speichel oder direkt aus dem Blut über die Vormagenwand in den Pansen, wo er von den Mikroorganismen erneut als Stickstoffquelle verwendet

und in mikrobeneigene Nucleinsäuren und/oder Proteine eingebaut werden kann (BREVES & LEONARD-MAREK 2010; REECE et al. 2010).

Zwischen 59,3 und 93,5 % des über die Nieren ausgeschiedenen Stickstoffs erfolgt beim Rind in Form von Harnstoff. Zu diesem Ergebnis kamen BRISTOW et al. (1992) bei ihren Untersuchungen an Holstein-Friesian-Milchkühen (n=10), die entweder auf der Weide mit Deutschem Weidelgras gehalten wurden oder im Stall und dabei Maissilage mit Krafftutter (v.a. Gerste und Fischmehl) erhielten. Der restliche Stickstoff wird in Form von Ammoniak Hippursäure, Allantoin, Kreatinin/Kreatin, Harnsäure, Xanthin/Hypoxanthin oder als freie Aminosäuren ausgeschieden (BRISTOW et al. 1992).

Beim erwachsenen Wiederkäuer spiegelt die Harnstoffkonzentration im Blut die Proteinaufnahme, das Protein/Energie-Verhältnis, den Proteinabbau und die Nierenfunktion wider (HUGI & BLUM 1997; EGLI & BLUM 1998). Liegt im Pansen ein Überschuss an Stickstoff relativ zur verdaulichen Energie vor, erhöht sich die ruminale Ammoniakkonzentration. Der mikrobiell nicht verwendete Ammoniak wird wegen der pH-Situation im Pansen hauptsächlich als NH_4^+ -Ion über die Pansenwand resorbiert und in der Leber zu Harnstoff umgewandelt. Wird über das Futter relativ zur Energie zu wenig Protein aufgenommen, so bleibt die ruminale Ammoniakkonzentration relativ niedrig. Dadurch, dass auch weniger NH_4^+ resorbiert wird, bleibt die Harnstoffkonzentration im Blut ebenfalls niedrig. Man sieht also, dass die Harnstoffkonzentration im Blutplasma in einem hohen Maß mit dem Gehalt an Ammoniak im Pansen korreliert (HAMMOND 1997).

Ebenso verhält es sich mit der Harnstoffkonzentration in der Milch, die Beziehung zwischen Milch- und Blutharnstoffgehalten ist dabei linear (STANGASSINGER 2003). Bei der Fütterung einer Ration mit einem hohen Anteil ruminal nicht abbaubaren Proteins resultiert ein niedriger ruminaler NH_3 -Gehalt. Die Folge – ein erniedrigter Harnstoffgehalt in Blut und Milch – wird allerdings in der Literatur nicht einheitlich formuliert: einige Ergebnisse zeigen, dass ein Überschuss an Rationsprotein, ob im Pansen abbaubar oder nicht, die Blutharnstoffkonzentration unbedingt erhöht. Harnstoff ist also ein Parameter, der den Zustand der Eiweißfütterung und die Effizienz der N-Verwertung bei Kühen aufzeigt. Allerdings lässt er keine Beurteilung der Aktivität der Mikroorganismen zu, denn diese ist, außer von einer optimalen Nährstoffzusammensetzung der Ration, auch von anderen Faktoren, wie z.B. des Rohfaseranteils, abhängig (STANGASSINGER 2003).

Innerhalb der ersten 3 Wochen nach der Entwöhnung sind sowohl die Absorption als auch die Nutzung von Ammoniak im Pansen noch gering. VAZQUEZ-ANON et al. (1993) konnten in ihren Untersuchungen an 4 männlichen Holstein Kälbern 8 Wochen nach der Entwöhnung ein Absinken der $\text{NH}_3\text{-N}$ Konzentration im Pansen beobachten, welche sie auf die verbesserte Verwertung des Stickstoffs durch die Mikroorganismen und den Verdünnungseffekt durch das vergrößerte Pansenvolumen zurückführten.

Untersuchungen von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) am 15., 30., 60., und 90. Lebenstag von heranwachsenden Milchrindkälbern haben gezeigt, dass deren Harnstoffkonzentration im Blutplasma ab dem 60. Lebenstag zunimmt. So erhöht sich die Konzentration von $3,1 \pm 0,8$ mmol/l am 30. Lebenstag auf $3,7 \pm 0,8$ mmol/l am 60. Lebenstag und weiter auf $4,7 \pm 1,1$ mmol/l am 90. Lebenstag. Diese signifikant zunehmenden Konzentrationen wurden als Ausdruck einer sich entwickelnden Vormagenverdauung und der dadurch steigenden endogenen Verfügbarkeit von Pansen-N, aber auch von Aminosäuren mikrobiellen Ursprungs, gewertet. Nach einem anfänglichen Konzentrationsabfall von der 4. (ca. 3,5 mmol/l) zur 6. Lebenswoche (ca. 2,9 mmol/l), stiegen auch bei HUGL & BLUM (1997) die Harnstoffkonzentrationen bei weiblichen Milchrindkälbern bis zur 14. Lebenswoche (auf ca. 4,4 mmol/l) an, um anschließend, bis zur 18. Lebenswoche (ca. 3,7 mmol/l), wieder abzufallen. Für die anfänglich sinkende Konzentration haben die Autoren keine Erklärung, aber den späteren Anstieg führen auch sie auf den erhöhten Abbau von Futterproteinen in den Vormägen zurück. Auch bei LOHAKARE et al. (2012) ist der Plasmaharnstoff von dem 35. auf den 70. Lebenstag gesunken (von ca. 3,3 mmol/l auf ca. 2,0 mmol/l), um dann bis zum 112. Lebenstag wieder anzusteigen (auf ca. 2,8 mmol/l). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen haben EGLI & BLUM (1998) keine signifikanten Veränderungen des Harnstoffspiegels während des von ihnen gewählten Untersuchungszeitraumes (von der Geburt bis zum 84. Lebenstag) bei Fleckviehkälbern in Mutterkuhhaltung feststellen können. KNOWLES et al. (2000) stellten einen Abfall von der Geburt (ca. 3,3 mmol/l) bis zum 6. Lebenstag (ca. 1,9 mmol/l) fest. Danach stieg die Konzentration bis zum 20. Lebenstag bis auf ca. 2,9 mmol/l an um dann wiederum abzufallen. Nach der Entwöhnung mit 42 Tagen, mit einem Plasmaharnstoff von ca. 2,4 mmol/l, kam es zu einem linearen Konzentrationsanstieg bis am 83. Lebenstag der Ausgangswert der Geburt wieder

erreicht war. Der Normbereich für Harnstoff im Plasma von ausgewachsenen Rindern liegt zwischen 3,3 und 5,0 mmol/l (LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK 2013).

2.8 Kreatinin

Im Muskel liegt Kreatinphosphat als Energiespeicher vor. Bei Muskelarbeit kann dieses rasch zu Kreatin dephosphoryliert werden, wodurch aus ADP ATP entsteht. Während der Erholungsphase steht dem Muskel genügend Sauerstoff zur Verfügung, sodass über die Atmungskette ATP gewonnen und damit Kreatinphosphat regeneriert werden kann. Ein Teil des Kreatins wird jedoch ständig spontan zu Kreatinin abgebaut und dann über die Nieren ausgeschieden. Der Anteil des Kreatins, der zu Kreatinin wird, ist konstant und abhängig von der Muskelmasse des Individuums (HORN 2009).

In der Untersuchung von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) wurde die Plasmakreatininkonzentration bei Deutsch Holstein Kälbern (n=38) im Alter von 15, 30, 60 und 90 Lebenstagen gemessen. Dabei hat sich eine kontinuierliche Abnahme gezeigt: Von $99,8 \pm 16,2 \mu\text{mol/l}$ auf $83,4 \pm 9,8 \mu\text{mol/l}$ auf $72,9 \pm 5,5 \mu\text{mol/l}$ auf $66,8 \pm 6,2 \mu\text{mol/l}$. Ursächlich hierfür halten sie die Reifung der Nierenfunktion und den geänderten Wasserdurchsatz durch den Tierkörper. Auch bei KHAN et al. (2007c) zeigt sich in einer Untersuchung an Holstein Kälbern (n=64) ein kontinuierlicher Abfall von $82,21 \pm 5,30 \mu\text{mol/l}$ in der 2. Lebenswoche auf $67,6 \pm 3,54 \mu\text{mol/l}$ in der 12. Lebenswoche. Durch die Fütterung verschiedener Stärkequellen (Gerste, Mais, Hafer oder Weizen) (KHAN et al. 2007c) und auch durch die Menge an konsumierter Milch (KHAN et al. 2007b) konnte kein Unterschied in der Plasmakreatininkonzentration festgestellt werden. EGLI & BLUM (1998) haben bei Fleckviehkälbern in Mutterkuhhaltung einen rapiden Plasma-Kreatinin Abfall von ca. $290 \mu\text{mol/l}$ (direkt nach der Geburt) auf ca. $100 \mu\text{mol/l}$ (im Alter von 1 Woche) beobachtet. Als möglichen Grund hierfür sehen sie eine Verbesserung der renalen Clearance, also der Nierenfunktion, schließen aber Veränderungen in der Muskelmasse sowie im Muskelabbau nicht aus. Im weiteren Verlauf allerdings blieb das Kreatininlevel bis zum 84. Lebenstag konstant. Die Ergebnisse von KNOWLES et al. (2000) zeigen einen ganz ähnlichen Verlauf mit einem Abfall innerhalb der

ersten 6 Lebenstage von ca. 300 $\mu\text{mol/l}$ auf ca. 80 $\mu\text{mol/l}$ und einem anschließenden Plateau auf diesem Niveau bis zum 83. Lebenstag. KLEE et al. (1985) verneinen die Einschränkung der Nierenfunktion als Grund für die erhöhten Kreatininwerte beim neugeborenen Kalb, da sich durch das rasche Absinken eine Kreatinin-Clearance von 2,2 ml/min/kg ergibt und dies nicht mit einer verminderten Funktionskapazität der Nieren vereinbar ist. Sie sehen die Anhäufung im Foetus-Allantoiskreislauf als ursächlich. Den Abfall des Plasmakreatinins erklären PICCIONE et al. (2010) u.a. mit der Anpassung der Neugeborenen an die veränderten Bedingungen.

2.9 Triglyceride

Den Hauptteil der Energieaufnahme beim Säugling macht das Milchfett (Triglyceride) aus. Diese sind die Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerin mit drei gebundenen Fettsäuren. Die Verdauung erfolgt bei Monogastriern durch eine linguale, gastrale und pankreatische Lipase, wobei die Triglyceride hydrolytisch zu Diglyceriden, Monoglyceriden und freien Fettsäuren gespalten werden. Zusammen mit Gallensäuren bilden diese Spaltprodukte die Micellen, welche in das Zottenepithel absorbiert werden. In den Darmzellen werden die aufgenommenen Fettspaltprodukte zu Triglyceriden resynthetisiert und mit Apolipoproteinen, und in geringerem Umfang auch Cholesterinestern, fettlöslichen (Pro)Vitaminen und anderen fettlöslichen Substanzen, zu Chylomikronen verpackt. Diese verlassen die Darmepithelzellen über die basolaterale Membran und gelangen über das Lymphsystem schließlich in den Blutkreislauf. Während der Anteil von Rohfett im Milchaustauscher für Kälber bei 16-19 % (KIRCHGEßNER et al. 2008) liegt, ist der Fettgehalt mit weniger als 50 g/kg Trockensubstanz in den meisten pflanzlichen Futtermitteln gering. Hauptträger der Energieaufnahme entwöhnter Wiederkäuer ist der Kohlenhydratgehalt im Futter. Ein zu hoher Anteil an Futterfett, insbesondere von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, würde das mikrobielle Wachstum insbesondere der cellulolytischen Flora erheblich reduzieren und ist somit unerwünscht.

EGLI & BLUM (1998) haben den Verlauf der Triglyceridkonzentration im Blutplasma von Fleckviehkälbern (n=19) in Mutterkuhhaltung von der Geburt bis zum 84. Lebenstag verfolgt. Nach einem Anstieg innerhalb der 1. Lebenswoche von ca. 0,30 mmol/l auf 0,43 mmol/l blieb der Wert im weiteren Verlauf annähernd konstant.

Der Anstieg in den ersten Lebenstagen hängt wahrscheinlich von der frühen Aufnahme von Kolostrum ab. Im Gegensatz dazu haben KNOWLES et al. (2000) die höchsten Triglycerid-Werte (0,4-0,5 mmol/l) bei der Geburt gemessen, verzeichneten dann einen Abfall, um ab dem 3. Lebenstag relativ konstante Level zwischen 0,2 und 0,3 mmol/l bis zum Ende ihrer Untersuchungen mit 83 Lebenstagen zu erfassen. Bei weiblichen Milchrindkälbern (n=10) haben HUGI & BLUM (1997) weitgehend konstante Triglyceridspiegel zwischen der 4. und 12. Lebenswoche von ca. 0,31 mmol/l beobachtet. Anschließend kam es zu einem Abfall auf ca. 0,2 mmol/l bis zur 16. Lebenswoche. Als mögliche Ursache sehen sie hierfür eine verminderte Fettaufnahme im Verlauf der Entwöhnung, die in der 9. Lebenswoche begann und mit der 16. Woche abgeschlossen war. Auch andere Autoren sehen beim Konzentrationsverlauf der Triglyceride im Blutplasma einen Zusammenhang zur höheren Fettaufnahme über die Milchaufnahme, und damit zur höheren Fettresorption. Bei einem Vergleich von männlichen Holstein Kälbern (n=20) die 10 % ihres Körpergewichtes an Milch erhalten haben mit einer zweiten Gruppe von männlichen Holstein Kälbern (n=20), die 20 % ihres Körpergewichtes an Milch erhalten haben, zeigten letztere an allen drei Untersuchungszeitpunkten (10, 20 und 30 Lebenstage) eine signifikant höhere Konzentration an Triglyceriden im Plasma (KHAN et al. 2007a; KHAN et al. 2007b).

2.10 β -Hydroxybutyrat

Wie Acetoacetat zählt auch β -Hydroxybutyrat zu den Ketonkörpern. Diese werden vornehmlich in der Leber gebildet. Herrscht Energiemangel, kommt es durch die Lipolyse zu einem Anstieg der freien Fettsäuren im Blutplasma. Im Rahmen der β -Oxidation wird aus diesen Fettsäuren in den Mitochondrien der Leber reichlich Acetyl-CoA gebildet, das vom gluconeogenetisch belasteten Citratzyklus (und der Atmungskette) nicht mehr im vollen Umfang abgebaut werden kann. Aus Acetyl-CoA wird nun in der Leber auch Acetoacetat gebildet, aus dem wiederum enzymatisch das besser wasserlösliche β -Hydroxybutyrat und spontan das Decarboxylierungsprodukt Aceton entstehen. Die Ketonkörper werden ins Blut abgegeben und können von vielen Geweben zeitlich verzögert über die Endoxidation als Energiequelle genutzt werden (GUNDELACH 2005; KIRCHGEBNER et al. 2008; HORN 2009; FUHRMANN & SALLMANN 2010).

Zu den unter Energiemangelsituationen in der Leber gebildeten Ketonkörpern kommt beim gefütterten Wiederkäuer noch das aus Buttersäure im Pansene­pithel gebildete β -Hydroxybutyrat. In Resorptionsstudien wurde wiederholt beobachtet, dass die hauptsächlich im Pansen luminal aufgenommenen kurzkettigen Fettsäuren nicht in gleichem Umfang wieder basolateral ans Pfortaderblut abgegeben werden (MARTENS 2010b). Es findet nämlich eine VFA spezifische Metabolisierung während der Resorption im Pansene­pithel statt. So vermag das Stratum Spinosum (JESSE et al. 1995) des Pansene­pithels aus Propionat Laktat (Elliot 1980) und aus Butyrat insbesondere β -Hydroxybutyrat, aber auch Acetoacetat zu bilden. Es werden mithilfe verschiedener Enzyme (z.B. der β -methylglutaryl-CoA Synthase oder der Acetoacetyl-CoA Thiolase) 75-80 % des resorbierten Butyrats in Ketonkörper umgewandelt (JESSE et al. 1995). Ca. 74-99 % der gesamten β -Hydroxybutyrat - Produktion bei gefütterten Wiederkäuern resultieren aus der Metabolisierung von Buttersäure (LENG & WEST 1969). SUTTON et al. (1963) haben eine Gruppe von Kälbern (n=3) ausschließlich mit Milch ernährt, eine andere (n=3) mit Milch, Heu und Getreide. Alle Tiere wurden im Alter von 16 Lebenswochen geschlachtet und das Pansene­pithel isoliert. Von dem zum Pansene­pithel zugegebenen Butyrat wurde in der Milch, Heu und Getreidegruppe 88 % zu Ketonkörpern metabolisiert, in der Milchgruppe hingegen nur 29 %. Bereits 4 Tage nach der Geburt konnten BALDWIN & JESSE (1992) eine Produktion von β -Hydroxybutyrat nachweisen, nachdem sie zu isolierten Pansenzellen von Lämmern in vitro Butyrat gegeben hatten. Die Tiere konnten Milch bei ihren Müttern trinken und erhielten Luzerneheu und mit Mineralsalz und einem Vitaminmix versetzte gequetschte Gerste. Bis zum 42. Lebenstag blieb diese β -Hydroxybutyratproduktion konstant gering um am 56. Lebenstag auf das 10-fache anzusteigen. Dies zeigt, dass die ketogenetische Kapazität pro Zelle vor der Entwöhnung relativ konstant bleibt. Eine bereits während dieses Zeitraumes ansteigende Konzentration von β -Hydroxybutyrat im Blut reflektiert also die zunehmende ruminale Masse und Zellzahl. Die ansteigende ketogenetische Kapazität der ruminalen Zellen geht einher mit der deutlichen Abnahme der Oxidation von Glucose zu CO_2 (BALDWIN & JESSE 1992). Während bei 1-2 Wochen alten Lämmern Butyrat im Pansene­pithel hauptsächlich zu CO_2 oxidiert wird, mit einem Ketogenese:Oxidations-Verhältnis von 0,2, steigt dieses Verhältnis bei 10 Wochen alten Lämmern auf einen Wert von 1,2 (BECK 1982). NH_4^+ -Ionen verringern die Ketogenese aus Butyrat um ca. 50 % und erhöhen die Oxidation zu CO_2 um ca.

20 %. Unter Zugabe von Glucose erhöht sich die Produktion von β -Hydroxybutyrat aus Butyrat um ca. 60-120 % (GIESECKE et al. 1979; STANGASSINGER et al. 1979). Nach BUSH (1988) ist die β -Hydroxybutyratproduktion des Pansenepithels bei bereits entwöhnten Kälbern im Alter von 60 Lebenstagen genauso hoch wie bei erwachsenen Rindern.

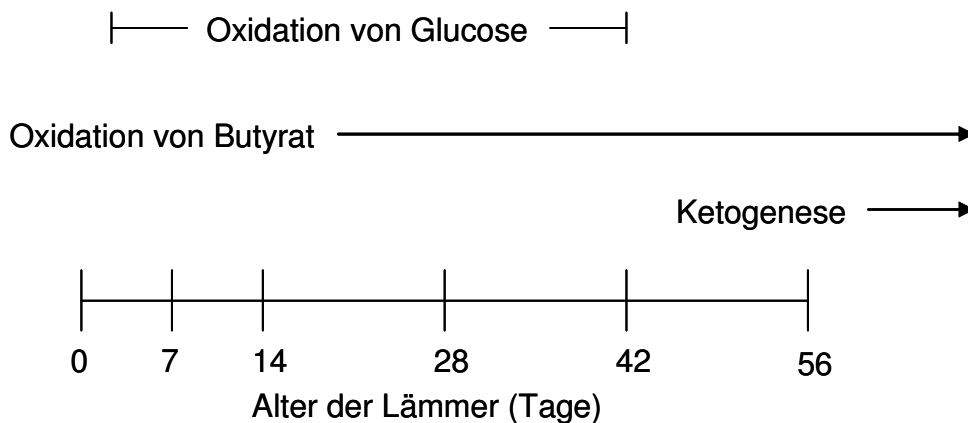


Abb. 2.10: Zeitliche Einordnung von Stoffwechselvorgängen am Pansenepithel von Lämmern (modifiziert nach JESSE et al. (1995)).

QUIGLEY et al. (1991) haben die β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma von weiblichen Holsteinkälbern von der Geburt bis zur 14. Lebenswoche verfolgt. Die Tiere wurden in 2 Gruppen aufgeteilt: Den früh entwöhnten Kälber wurde bereits ab dem 1. Lebenstag Kälberstarter angeboten und sie wurden mit 28 Tagen entwöhnt. Die spät entwöhnte Gruppe erhielt ab dem 28. Lebenstag Kälberstarter und wurde mit 56 Tagen entwöhnt. Vor der Entwöhnung stieg die β -Hydroxybutyratkonzentration bei der früh entwöhnten Gruppe langsam an, um dann bis zur 8. Woche stark anzusteigen. In der spät entwöhnten Gruppe hingegen stieg die β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma mit dem angebotenen Kälberstarter nur langsam. Erst zwischen Woche 7 und 9, wo bedeutende Mengen an festem Futter verzehrt wurden, kam es zu einem signifikanten β -Hydroxybutyrat-Konzentrationsanstieg. Nach der 9. Lebenswoche konnten keine Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen mehr festgestellt werden. Auch andere Autoren beobachteten bei heranwachsenden Milchrindkälbern einen Konzentrationsanstieg von β -Hydroxybutyrat im Blutplasma. So bewegt sich der Wert innerhalb der ersten 40 Lebenstage bei Kälbern der Arbeit von KNOWLES et al. (2000) zwischen 0,1 und 0,15 mmol/l, um dann bis auf 0,4 mmol/l am 83. Lebenstag

anzusteigen. Bei HUGI & BLUM (1997) beginnen die Untersuchungen an Kälbern in der 4. Lebenswoche mit 0,05 mmol/l β -Hydroxybutyrat und steigen bis zum Ende mit 18 Wochen auf 0,38 mmol/l. KLOTZ & HEITMANN (2006) beobachten zwar einen ähnlichen zunehmenden β -Hydroxybutyratverlauf, jedoch pendelt sich das Konzentrationsniveau im Blutplasma zwischen der 10. und 16. Lebenswoche auf höhere Werte (zwischen 0,8 und 1,0 mmol/l) ein. EGLI & BLUM (1998) konnten diesen deutlichen Anstieg für Kälber in Mutterkuhhaltung nicht bestätigen. Zum Zeitpunkt der Geburt haben sie zwar auch Werte von 0,1 mmol/l gemessen, im weiteren Verlauf war aber nur eine vorübergehende Erhöhung am 56. Lebenstag auf 0,149 mmol/l zu erkennen. Bis zum Ende ihrer Untersuchungen am 84. Lebenstag stieg die β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma noch einmal, allerdings nicht signifikant, auf 0,16 mmol/l. Insgesamt war die Variation in der Versuchsgruppe mit 0,006-0,41 mmol/l groß. Die Menge der Aufnahme von festem Futter scheint bei diesen Kälbern mit möglicherweise noch bestehender (recht unterschiedlicher Milchaufnahme) noch auf sehr niedrigem und individuell sehr unterschiedlichem Niveau zu sein.

2.11 Glucose

Beim Milchkalb wird die abgeschluckte Milch unter Umgehung der Vormägen über die sich reflektorisch schließende Schlundrinne direkt in den Labmagen geleitet. Die in der Milch enthaltene Lactose (Milchzucker) wird im Bürstensaum des Dünndarmepithels durch das Enzym Laktase in Glucose und Galactose gespalten. Diese beiden Monosaccharide werden anschließend vom Dünndarmepithel per erleichterte Diffusion resorbiert und treten im Pfortaderblut weitgehend unverändert wieder in Erscheinung (WOLFFRAM & SCHARRER 2010).

Beim erwachsenen Wiederkäuer fehlt diese direkte, nutritive Glucoseverfügbarkeit. Dessen Blutglucosespiegel wird maßgeblich über eine andere Quelle gespeist: Der Hauptteil der Kohlenhydrate wird im entwickelten Pansen durch die Mikroflora verdaut. Die dabei entstehenden Monosaccharide werden mikrobiell aufgenommen und hauptsächlich über die anaerobe Glykolyse (und den Pentose-Phosphat-Zyklus) zu reduzierten Kohlenhydratmetaboliten, den kurzkettigen Fettsäuren (v.a. Acetat, Propionat und Butyrat, aber auch in geringen Mengen Valerat, Isobutytrat und Isovalerat) und zu CO_2 und H_2 abgebaut. Der größte Teil dieser kurzkettigen

Fettsäuren wird bereits im Pansen resorbiert (JESSE et al. 1995; KIRCHGEßNER et al. 2008; BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Nur ein geringer Teil der mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate (insbesondere bei intensiver Fütterung mit hoher Energiedichte im Futter aus Kohlenhydraten) wird beim erwachsenen Wiederkäuer als Glucose im Dünndarm resorbiert und trägt so mit maximal 10-15 % zum Glucosehaushalt bei. Allerdings kann diese Glucose von der Leber aufgrund der unzureichenden enzymatischen Voraussetzungen (geringe Hexokinase-Aktivität, fehlende Glucokinase-Aktivität) kaum direkt verwendet werden (STANGASSINGER 2010). Der Hauptteil der Glucoseverfügbarkeit resultiert aus der Gluconeogenese in der Leber und zu einem deutlich geringeren Anteil (20 %) in der Niere. Dabei dienen in der Leber das aus dem Pansen stammende Propionat zu 65 % (FUHRMANN & SALLMANN 2010) und in der Niere vorwiegend Aminosäuren als gluconeogenetisch nutzbares Substrat.

Während der Pansenentwicklung finden auch Enzymanpassungen in Leber, Muskel und Fettgewebe statt. Z.B. nimmt die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in der Leber ab: $2,71 \pm 0,85$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ Lebergewebe bei milchgefütterten Kälbern, $2,01 \pm 0,11$ bei früh entwöhnten Kälbern und $0,98 \pm 0,03$ bei ausgewachsenen Stieren (HOWARTH et al. 1968). Die verminderte Leistungsfähigkeit für Glycogen-Speicherung und -Abgabe, für die Phosphorylierung und Oxidation von Hexose und eine gesteigerte Fähigkeit für die Gluconeogenese spiegelt vermutlich die verminderte Verfügbarkeit von Glucose aus der Nahrung wider (STANGASSINGER & GIESECKE 1986).

Da die Transportkapazität der Placenta für Glucose bei Huf- und Klauentieren beschränkt ist, nimmt dessen Konzentration im Blut der Feten gegen Ende der intrauterinen Entwicklung deutlich ab und steigt erst postnatal durch die Aufnahme von Kolostrum wieder an. Für einen signifikanten Anstieg ist dabei oft erst die 2. Mahlzeit verantwortlich, wenn die 1. sehr früh nach der Geburt (1 Stunde) stattfindet (THIVEND et al. 1979). Zwischenzeitlich dient ein erhöhter Fructosegehalt – um den Zeitpunkt der Geburt ist die Fructosekonzentration im Blut von Kälbern sechs mal höher als die Glucosekonzentration – als Kohlenhydratquelle zur Auffüllung des fetalen Leberglykogens (STANGASSINGER 2010).

Wegen der oben geschilderten digestiven und metabolischen Gegebenheiten haben Kälber im Allgemeinen (um ca. 33 % (STANGASSINGER 2010)) höhere Blutglucosespiegel als erwachsene Wiederkäuer. Dieser Unterschied wird dem Alter

und insbesondere der sich dabei erheblich ändernden Ernährung zugeschrieben. Dabei zeigen Kälber, die große Mengen an Raufutter erhalten niedrigere Plasmaglukosekonzentrationen als Mastkälber, die Milchaustauscher bekommen (GUILLOTEAU et al. 1995).

In einer Untersuchung an weiblichen Deutsch Holstein-Kälbern und -Kühen haben Lumsden et al. (1980) eine Plasmaglukosekonzentration von $5,2 \pm 1,2$ mmol/l bei 44 Kälbern während der ersten beiden Lebenswochen ermittelt. Zwischen der 2. Lebenswoche und dem 6. Lebensmonat sank dieser Wert auf $4,1 \pm 0,9$ mmol/l und im Alter von 6 Monaten bis 2 Jahren weiter auf $3,6 \pm 0,3$ mmol/l. Auch QUIGLEY et al. (1991) haben bei Deutsch Holstein Kälbern ein Absinken der Plasmaglukose mit dem Alter festgestellt. Nach der Geburt lagen die durchschnittlichen Werte bei 6,35 mmol/l, erreichten zwischen der 9. und 11. Lebenswoche einen Tiefststand von 4,22 mmol/l um sich bis zur 14. Woche auf ca. 4,83 mmol/l einzustellen. STEINHARDT & THIELSCHER (2000) stellten ein Absinken des Glucoselevels von $4,4 \pm 0,6$ mmol/l am Ende der 2. Lebenswoche auf $3,5 \pm 0,4$ mmol/l in der 13. Lebenswoche fest. Im Gegensatz zu diesen Befunden einer alterabhängigen Abnahme der Blutglukosekonzentration beim heranwachsenden Wiederkäuer haben LOHAKARE et al. (2012) bei Kälbern zwischen der 5. und 21. Lebenswoche eine allmähliche Blutglukosezunahme von anfänglich ca. 4,3 mmol/l bis auf ca. 5,3 mmol/l festgestellt. Auch in der Untersuchung von KLOTZ & HEITMANN (2006) nahm die Plasmakonzentration nach einer anfänglichen Abnahme zwischen der 1. und 7. Lebenswoche (von 3,7 mmol/l auf 2,6 mmol/l), nach der Entwöhnung wieder zu und erreichte in der 16. Lebenswoche wieder den Ausgangswert von 3,7 mmol/l. Welche Faktoren hier in diesen letztgenannten Untersuchungen die eigentlich erwartbare Hypoglykämie bei heranwachsenden Wiederkäuern verhindert oder kompensiert haben, bleibt unklar.

In einer Mutterkuhhaltung, in der die Milchaufnahme der Kälber nicht begrenzt war und sie zusätzlich uneingeschränkter Zugang zum Futter der Muttertiere (Stroh, Heu, Grassilage und jahreszeitabhängig Gras ad libitum) hatten, konnten EGLI & BLUM (1998) zwischen dem 1. Lebenstag und der 12. Lebenswoche eine weitgehend konstant bleibende Blutglukosekonzentrationen von ca. 6,3 mmol/l feststellen. HUGI & BLUM (1997) monitorierten die Blutglukose bei Zuchtkälbern zwischen der 4. und 18. Lebenswoche, wobei die Tiere in der 16. Lebenswoche

vollständig von der Milch entwöhnt wurden. Sie beobachteten ein allmähliches Absinken der Glucosekonzentration von ca. 6,4 mmol/l in Woche 4 auf ca. 4,3 mmol/l in Woche 18, wobei am Ende ihrer Untersuchungen noch nicht das Niveau von erwachsenen Rindern erreicht war. Erwachsene Wiederkäuer haben einen Blutglucosespiegel von 2,5-3,9 mmol/l (LUMSDEN et al. 1980; STANGASSINGER 2010).

2.12 Insulin

Insulin ist ein Peptidhormon, das in den B-Zellen der Langerhansschen Inseln im Pankreas produziert und in Granula gespeichert wird. Als Hauptstimulus für die Insulinsekretion gilt ein Anstieg des Blutzuckerspiegels. Daneben existieren noch weitere Energieträger (z.B. Aminosäuren, Fettsäuren), deren Konzentration im Blut z.B. nach einer Mahlzeit ansteigt. Neben dem Inkretinsystem (GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide), GLP-1 (glucagon-like peptide-1) aus der Darmwand), das die Insulinwirkung oral aufgenommener Energiemetabolite noch verstärken kann (STANGASSINGER 2010; GALLWITZ 2011), hat auch der Parasympathikus eine die Insulin-Ausschüttung stimulierende Wirkung (AHRÉN et al. 2006; STANGASSINGER 2010). Kommt es aufgrund von Nahrungsaufnahme zu einer Hyperglykämie, so ist diese von einer vorübergehend gesteigerten Insulinfreisetzung, einer gleichbleibenden oder verzögert ansteigenden Glucagonfreisetzung und einem späten Anstieg der Adrenalinsekretion begleitet. Diese symbiotisch homöostatische Antwort verhindert eine übermäßig dominierende Wirkung der einzelnen Hormone. Maßgeblich für Änderungen im Stoffwechsel ist, vielmehr als die absolute Höhe der Hormonkonzentrationen, der geänderte Insulin/Glucagon-Quotient. Die antagonistische Wirkung von Insulin und Glucagon bezieht sich nur auf die Glykogenolyse und Gluconeogenese in der Leber, die periphere Insulinwirkung wird dagegen nicht antagonisiert (STANGASSINGER 2010).

Beim erwachsenen Wiederkäuer sind es vorwiegend die VFA, deren Konzentrationszunahme im Blut zu einer mäßigen Insulinsekretion führen. Dabei wirken Propionat, Butyrat und Valerat deutlicher als alle anderen VFA stimulierend (HORINO et al. 1968). Insulin hat als anaboles Hormon vielfältige Wirkungen im Organismus. So wird der Blutglucosespiegel gesenkt, indem vermehrt Glucose über

den Insulin-abhängigen Glucosetransporter (GLUT4) in die Muskel- und Fettzellen (in Relation zur Körpermasse mengenmäßig bedeutsame Gewebe) aufgenommen wird (Push-Mechanismus). In der Leber wird Glucose über die leberspezifische, Insulin-abhängige Glucokinase nach Aufnahme über den Insulin-unabhängigen GLUT-2 intrazellulär phosphoryliert und so ein in die Leberzelle hineingerichteter Glucosekonzentrationsgradient aufrecht erhalten (Pull-Mechanismus). Wurden mittels der ebenfalls Insulin-abhängigen Glykogensynthase große Mengen an Glykogen in der Leber gebildet, so wird Glucose auch weiteren Stoffwechselwegen (Glykolyse, Fettsäuren-Synthese) zugeführt. Die fettanabole Wirkung von Insulin wird noch dadurch unterstützt, dass gleichzeitig auch die Spaltung von Triglyceriden im Fettgewebe unterdrückt wird. Weiterhin stimuliert Insulin die intrazelluläre Aufnahme von Aminosäuren, Kalium, Magnesium und Phosphationen.

KLOTZ & HEITMANN (2006) haben die Plasmainsulinkonzentration bei Jersey Stierkälbern während der ersten 16 Lebenswochen verfolgt. Nach der Fütterung von Kolostrum haben die Tiere zwischen dem 3. und 34. Lebenstag Milchaustauscher erhalten. In der Umstellungsphase (35. bis 48. Lebenstag) wurden sie mit Milchaustauscher und freiem Zugang zu Kälberstarter ernährt, ab Tag 49 erhielten sie ausschließlich Kälberstarter. Dabei haben sich stark variierende Konzentrationen im Beobachtungszeitraum ergeben. So lagen die Tiefstwerte im Mittel bei 0,42 mU/l (7. Lebenswoche, Zeitpunkt der vollständigen Entwöhnung von der Milch), die Höchstwerte im Mittel bei 5,02 mU/l (16. Lebenswoche). In einer Mutterkuhhaltung konnten bei Kälbern nach einem deutlichen Anstieg innerhalb des 1. Lebenstages (von ca. 14,39 mU/l auf ca. 26,38 mU/l) weitgehend konstante Werte bis zur 12. Lebenswoche gemessen werden (EGLI & BLUM 1998). Bei der Beprobung von weiblichen Milchviehkälbern zwischen der 4. und der 18. Lebenswoche haben HUGI & BLUM (1997) einen Abfall von anfänglich ca. 59,97 mU/l auf ca. 11,99 mU/l in der 14. Woche festgestellt. Dieses Ergebnis haben sie auf die Entwöhnung (abnehmende Milchmenge ab der 8. Lebenswoche) zurückgeführt. Bei Mastkälbern hingegen nimmt die Plasmainsulinkonzentration während der Mastperiode mit Milchaustauscher bis zum Schlachten hin zu (HUGI et al. 1997). LAKE et al. (2006) haben bei laktierenden Fleischrindern eine präprandiale Konzentration von ca. 22,07 mU/l und für die ersten 4 Stunden postprandial im Mittel 17,27 mU/l ermittelt. Innerhalb dieser vier Stunden nach der Fütterung gab es keine wesentlichen

Konzentrationsschwankungen. Kälber die große Mengen an Raufutter fressen, haben niedrigere Plasmainsulinkonzentrationen als Mastkälber, die mit Milchaustauscher ernährt werden (GUILLOTEAU et al. 1995).

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchskonzept

Für die Untersuchung wurde von je 15 Kälbern in 6 verschiedenen Altersklassen (1, 2, 6, 10, 14 und 24 Lebenswochen) Blut zur weiteren Untersuchung entnommen. Die Entnahmezeitpunkte haben sich am Fütterungsregime, und damit am Alter der Kälber, orientiert. Die ersten beiden Zeitpunkte (1 und 2 Wochen nach der Geburt) repräsentieren die Situation der reinen Milchernährung (= Milchkalb). Während der darauffolgenden Wochen, in denen die nächsten beiden Untersuchungszeitpunkte (6 und 10 Wochen nach der Geburt) liegen, erfolgt die allmähliche Umstellung auf festes Futter (= Entwöhnung). Die letzten beiden Zeitpunkte (14 und 24 Wochen nach der Geburt) stellen stellvertretend die Situation der ausschließlichen Festfutteraufnahme dar und repräsentieren damit den sich entwickelnden Wiederkäuer, wobei von der Woche 14 zur Woche 24 in der Regel eine deutliche Lebendmassezunahme (=Körperentwicklung) stattfindet und damit auch eine markante Weiterentwicklung des Vormagensystems stattfinden sollte.

Alter:	Geburt	2 Lebenswochen	12 Lebenswochen
	Kolostrum/ MAT	MAT	
		Heu, TMR, Kälberkorn, Bruchmais	Heu, TMR, Krafftfutter

Abb. 3.1: Kälberfütterung und deren Umstellungszeitpunkte

MAT: Milchaustauscher, TMR: total mixed ratio

3.2 Kälber

Als Versuchstiere standen insgesamt 31 weibliche Kälber aus dem Lehr- und Versuchsgut der Münchner Tierärztlichen Fakultät in Oberschleißheim zur Verfügung. Davon wurde von 7 Tieren konsekutiv zu allen 6 Entnahmezeitpunkten Blut entnommen, von 18 Tieren wurde mehrfach Blut genommen und von 6 Tieren

wurde nur einmalig Blut entnommen. In diesem beprobten Kälberkollektiv war die Rassenverteilung wie folgt: Fleckvieh (n=4), Schwarzbunte (n=4), Murnau-Werdenfelser (n=2), Fleckvieh/Schwarzbunte (n=19), Fleckvieh/Braunvieh (n=1), Fleckvieh/Gelbvieh (n=1).

3.3 Fütterung und Haltung

Die Kälber wurden nach der Geburt in einem Einzelglu aufgestellt und wurden zunächst mithilfe eines Tränkeimers mit Kolostrum ihrer jeweiligen Muttertiere versorgt. So bekamen die Neugeborenen in den ersten 3 Lebenstagen 3 l Kolostrum täglich, aufgeteilt auf 3 Mahlzeiten. Am 4. Tag erfolgte die Umstellung von Kolostrum auf Milchaustauscher (MAT) (SALVANA AM-16/30). Die genaue Zusammensetzung der jeweiligen Rationen ist der Tabelle 3.3.1 zu entnehmen. Während der Sommermonate wurde der MAT in einer Konzentration von 120 g/l mit Leitungswasser angemischt, im Winter wurde auf 140 g/l erhöht. Von den Blutabnahmezeitpunkten, zu denen MAT aufgenommen wurde (Lebenswoche 1, 2, 6 und 10), entfielen 26 auf Sommer- und 34 auf Wintermonate. Das täglich den Kälbern vorgesetzte MAT-Volumen stieg von der 1. bis zur 5. Woche von 3,25 l bis auf 9,00 l an, blieb dann bis zur 8. Woche konstant, um schließlich, bis zur 12. Woche, auf 3,25 l abzufallen. In der 13. Woche waren die Tiere dann gänzlich vom MAT entwöhnt und auf festes Futter umgestellt.

Im Alter von gut 2 Wochen wurden die Kälber, unabhängig vom Geschlecht, in einen Kälberlaufstall verbracht. In dieser Gruppenhaltung standen die Kälber auf Stroh, wobei sie sich zwischen einem Innen- und einem teils überdachten Außenbereich frei bewegen konnten. Je nach körperlicher Entwicklung wurden die Tiere innerhalb des Kälberstalles in 3 verschiedene, abgetrennt gehaltene, Gruppen eingeteilt. Die Gruppengröße betrug, je nach momentaner Stallbelegung, 8 bis 15 Tiere. Transpondergesteuert wurde den 3 Kälbergruppen mittels eines Tränkeautomaten der MAT angeboten. Desweiteren bekamen sie Heu zur freien Aufnahme. Einmal täglich wurde ihnen zusätzlich Milchvieh-TMR und Bruchmais (erste Gruppe mit den jüngeren Tieren), bzw. Milchvieh-TMR und Kälberkorn (die beiden anderen Gruppen) vorgelegt. Die jeweiligen Zusammensetzungen von Milchvieh-TMR und Kälberkorn sind den Tabellen 3.3.2 und 3.3.3 zu entnehmen.

Im Alter von ca. 23-25 Wochen, je nach körperlicher Entwicklung, erfolgte aufgeteilt nach Geschlecht die Umstallung in den Jungviehstall mit Spaltenboden. Die weiblichen Tiere bekamen einmal täglich Milchvieh-TMR und Krafftutter für Jungkühe (Zusammensetzung siehe Tabelle 3.3.4). Heu stand ihnen weiterhin ad libitum zur Verfügung.

Tab. 3.3.1: Zusammensetzung des MAT

Inhaltsstoffe:
19 % Rohprotein, 16 % Rohfett, 0,1 % Rohfaser, 8,5 % Rohasche, 1,7 % Lysin, 0,9 % Calcium, 0,7 % Phosphor
Zusammensetzung:
43,3 % Süßmolkenpulver, 30,0 % Magermilchpulver, 16,0 % Pflanzenfett raff., 6,0 % Molkenpulver teilentzuckert, 3,0 % Weizenproteinkonzentrat
Zusatzstoffe je kg Mischfutter:
Vitamin A 50.000 I.E. (E672), Vitamin D3 5.000 I.E. (E671), Vitamin E 100 mg (alpha-Tocopherolacetat), Kupfer 5 mg als Glycin-Kupferchelate, Hydrat (E4), Zitronensäure
0,8 x 10 hoch 9 KBE Enterococcus faecium M74 (NCIMB 11181), EC Id Nummer E 1708-PUCOFERM

Tab. 3.3.2: Rationsbestandteile der Milchvieh-TMR

22,0 kg	Grassilage
21,5 kg	Maissilage
1,3 kg	gemahlene und mit Mineralfutter versetzte Melasseschnitzel
0,8 kg	Körnermais
0,8 kg	Sojaextraktionsschrot
0,6 kg	Rapsschrot

Tab. 3.3.3: Bestandteile der Kälberkornration

42,33 %	Hafer
28,67 %	Weizen
28,00 %	Soja
1,00 %	Mineralfutter

Tab. 3.3.4: Komponenten der Kraffutterrations für Jungkühe

37,00 %	Weizen
25,00 %	Mais
20,00 %	Soja
13,00 %	Gerste
5,00 %	Rapsschrot

3.4 Wiegen der Kälber

Die Lebendmasse der Kälber (in kg) wurde sowohl zum Zeitpunkt der Geburt, als auch unmittelbar nach den Blutabnahmen Ende der 14. und 24. Lebenswoche erfasst.

3.5 Blutentnahme bei den Kälbern

Die Blutentnahmen wurden an den relevanten Beprobungstagen um 9 Uhr vormittags (+/- ½ Stunde) durchgeführt, um bezüglich der Tageslicht- und Futteraufnahmesituation vergleichbare Bedingungen zu haben. Das Blut wurde mittels Punktion der Vena jugularis entnommen. Hierfür wurden S-Monovette-Kanülen 21G x 11/2` und mit Kalium-EDTA beschichtete S-Monovetten (9 ml) der Firma Sarstedt (Nümbrecht) verwendet. Pro Tier wurden 3 volle Röhrchen Blut der nichtgestauten Vene entnommen. Noch im Stall wurden die Monovetten in einem Styroporbehältnis mit feinem Brucheis gekühlt gelagert und so in das dem Stall benachbarte Labor transportiert.

3.6 Verarbeitung des Blutes

Die Monovetten wurden in einer Kühlzentrifuge 10 Minuten bei 3000 U/min und 4° C zentrifugiert. Danach wurde das Plasma abpipettiert und je nach weiterer analytischer Verwendung unterschiedlich behandelt: Ein Teil des Plasmas wurde sogleich in flüssigem Stickstoff tiefgefroren, ein anderer Teil wurde weiter mittels Brucheis gekühlt und ein weiterer Teil wurde mittels Säurebehandlung enteweißt (siehe Abbildung 3.6). Dazu wurde zu 1 ml Plasma 41,8 µl 70 %ige Perchlorsäure gegeben, geschüttelt und bis zur weiteren Verarbeitung ebenfalls auf Eis gekühlt. Nach zehnmütiger Zentrifugation bei 13.000 g wurden 800 µl des Überstandes

abpipettiert und 50 µl Universalindikator (Universalindikator-Lösung, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) zugegeben. Der pH-Wert des enteiweißten Plasmas wurde nun mithilfe von einem ebenfalls registrierten Volumen einer Kaliumhydroxid-Lösung (20 g / 100 ml) auf einen Wert zwischen 6,0 und 6,5 eingestellt.

Da der Universalindikator in der HPLC-Analytik einen Peak erzeugt, der mit dem des Pseudouridins zusammenfällt, war eine gesonderte Behandlung des Plasmas für die Pseudouridinbestimmung (siehe 3.7.1) notwendig: Nach dem Enteiweißen mit Perchlorsäure und der Zentrifugation wurde der enteiweißte Überstand in zwei Portionen mit je 400 µl aufgeteilt. Mit einer Portion wurde wie oben beschrieben verfahren. In die zweite Portion wurde kein Universalindikator, sondern nur Kaliumhydroxid gegeben, und zwar in den Mengen, die für die entsprechende erste Portion nötig waren um einen pH-Wert zwischen 6,0 und 6,5 zu erreichen.

Für die Bestimmung des Melatonins (siehe 3.7.2) war es notwendig dieses aus dem Plasma zu extrahieren. Dazu wurde zu 1 ml Plasma 5 ml Chloroform gegeben und das Röhrchen sogleich verschlossen. Nachdem das Röhrchen 1 Stunde bei 84 U/min geschwenkt worden ist, wurde es 15 min bei 5.000 U/min zentrifugiert. Es entstanden 3 Schichten: Unten die Chloroformphase mit dem Melatonin, in der Mitte das ausgefallene Eiweiß und oben die wässrige Phase. Das Eiweiß wurde vorsichtig beiseite geschoben, um 4 ml aus der unteren, der Chloroformphase, abzupipettieren und in ein sauberes Röhrchen zu überführen. Dieses Röhrchen wurde unter einem Abzug in ein 40°C warmes Wasserbad gestellt und mit Stickstoff begast bis das Chloroform vollständig verdunstet war. Um den am Rand und am Boden des Röhrchens anhaftenden Rückstand wieder zu lösen, wurden 800 µl Puffer (25 mM Zitronensäure, 25 mM Natriumacetat, 0,05 mM EDTA) zugegeben und sorgfältig geschüttelt (Vortex-Gerät, Cenco Instrumenten B. V., Breda, Niederlande).

Bis zur Analyse wurden die Proben bei -20°C bzw. bei -80°C (die Proben, die schon vorher in flüssigem Stickstoff tiefgefroren worden sind) eingelagert.

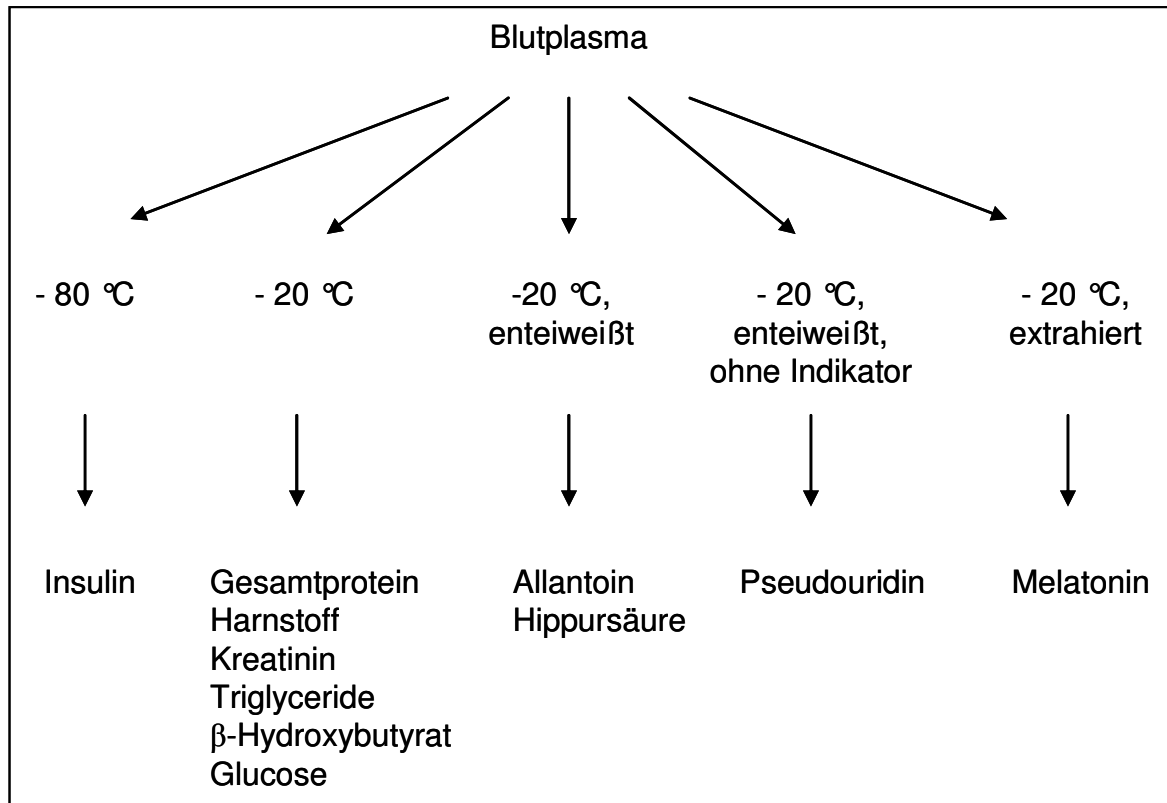


Abb. 3.6: Vorbehandlung des Blutplasmas für die Laboranalytik

3.7 Analyseverfahren

3.7.1 Allantoin, Hippursäure, Pseudouridin

Alle HPLC-Messungen erfolgten mit einer Gerätekonfiguration der Firma Jasco (Groß-Umstadt): 851-AS Intelligent Sampler, PU-980 Intelligent HPLC Pump, DG-980-50 3-Line Degasser und UV-975 Intelligent UV/VIS Detector.

Für die Analytik von Allantoin, Hippursäure und Pseudouridin wurden zwei hintereinandergeschaltete Säulen Spherisorb ODS 2 der Firma Waters (Eschborn) mit einer Länge von 250 mm, einem Durchmesser von 4,6 mm und einer Partikelgröße von 5 μm verwendet. Als Lösungsmittel diente 0,01 M Natriumhydrogenphosphat mit einem pH von 6,5, das mit einer Flußrate von 0,8 ml/min durch die HPLC gepumpt wurde. Das Einspritzvolumen der Probe betrug 100 μl . Erkannt wurden die Peaks durch den UV-Detektor bei einer Wellenlänge von 205 nm. Zur Überprüfung der korrekten Funktionsweise der HPLC-Anlage wurde vor

dem Beginn eines Analysendurchganges und nach jeweils 10 Probendurchläufen ein Standardgemisch (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) der zwei simultan zu messenden Parameter Allantoin und Hippursäure bzw. Pseudouridinstandard (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) mit bekannter Konzentration eingespritzt. Mit der HPLC-Software „Borwin“ (Borwin V1.21.60, JMBS Developments, Grenoble, Frankreich) konnte die Fläche unter den Peaks berechnet werden. Die Fläche der Proben wurde verglichen mit der Fläche des zuletzt durchgelaufenen Standards. So konnte die Konzentration im Plasma berechnet werden.

Von Allantoin, Hippursäure und Pseudouridin wurden jeweils die Präzision (n=10), die Linearität (in 9 Verdünnungsschritten) und die Wiederfindung bestimmt: Für Allantoin lag die Präzision bei 1,91 %, die Wiederfindung bei 95,76 %. Bei der Hippursäure lag die Präzision bei 1,00 %, die Wiederfindungsrate bei 98,76 %. Für Pseudouridin ergab sich eine Präzision von 1,34 % und eine Wiederfindung von 99,98 %. Für alle 3 Parameter war im relevanten Messbereich die Linearität gegeben.

3.7.2 Melatonin

Für die HPLC-Analytik von Melatonin wurde 1 Säule Spherisorb ODS 2 mit einer Länge von 250 mm, einem Durchmesser von 4,6 mm und einer Partikelgröße von 5 µm verwendet. Als Lösungsmittel diente eine Mischung aus 80 % Puffer (25 mM Zitronensäure, 25 mM Natriumacetat und 0,05 mM EDTA), der mit Natriumhydroxid auf pH 4,4 eingestellt wurde, und 20 % Acetonitril. Die Flußrate betrug 1,0 ml/min bei einem Einspritzvolumen von 100 µl. Erkannt wurden die Melatonin-Peaks durch einen Fluoreszenz-Detektor (λ EX 275 nm, λ EM 340 nm, Jasco FP-920 Intelligent Fluorescence Detector). Zur Überprüfung der korrekten Funktionsweise der HPLC-Anlage wurde vor Beginn der Analyse und nach jeweils zehn Probendurchläufen ein Melatoninstandard (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri) mit bekannter Konzentration eingespritzt. Durch den Vergleich mit dem Standard konnte die Konzentration im Plasma wie bei oben genannten Parametern berechnet werden.

Die Präzision bei n=10 des nicht-extrahierten Melatonin-Standards lag bei 5,82 %, die des Extrahierten bei 7,63 %. Auch die Linearität wurde in je zehn Verdünnungsschritten anhand eines nicht-extrahierten und eines extrahierten Standards bestimmt. In beiden Fällen war die Linearität im relevanten Messbereich

gegeben. Bei der Wiederfindung wurde zu 6 verschiedenen Blutproben jeweils eine definierte Konzentration Melatonin-Standard gegeben. Es ergab sich eine mittlere Wiederfindungsrate von 98,02 %.

3.7.3 Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Triglyceride, β -Hydroxybutyrat, Glucose

Diese Parameter wurden enzymatisch durch einen Hitachi Automatic Analyzer 912, Firma Roche Diagnostics GmbH (Mannheim), entsprechend den Herstellerangaben bestimmt.

3.7.3.1 Gesamtprotein

Das Testprinzip des „Gesamtprotein“ Kits von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim) ist, dass zwei-wertiges Kupfer in alkalischer Lösung mit der Peptidbindung der Proteine zum charakteristischen purpurfarbenen Biuretkomplex reagiert. Die Farbintensität ist dabei direkt proportional zur Proteinkonzentration und wird photometrisch gemessen. Laut Herstellerangaben liegt die Wiederholpräzision (n=21) des Tests bei 0,6 %, die Zwischenpräzision (3 Aliquote pro Durchlauf, 1 Durchlauf pro Tag, 21 Tage) bei 1,0 %.

3.7.3.2 Harnstoff

Bei dem Test-Kit „Harnstoff/Harnstoff-N kinetischer UV-Test“ von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim) wird Harnstoff durch Urease zu CO_3^{2-} und Ammoniak hydrolysiert. Das Ammoniak reagiert mit α -Ketoglutarat und $\text{NADH} + \text{H}^+$ unter der Wirkung des Enzyms GLDH zu Glutamat und NAD. Die Extinktionsabnahme durch den Verbrauch von $\text{NADH} + \text{H}^+$ wird anschließend kinetisch bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen. Laut Herstellerangaben liegt die Wiederholpräzision (n=21) des Tests bei 0,8 %, die Zwischenpräzision (3 Aliquote pro Durchlauf, 1 Durchlauf pro Tag, 21 Tage) bei 3,4 %.

3.7.3.3 Kreatinin

Die Methode des Test-Kits „Creatinin plus“ von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim) basiert auf der mittels der Enzyme Creatininase, Creatinase und Sarcosinoxidase katalysierten Umwandlung von Creatinin zu Glycin, Formaldehyd und Wasserstoffperoxid. Unter der katalytischen Wirkung von Peroxidase bildet das freigesetzte Wasserstoffperoxid mit 4-Aminophenazon und 2,4,6-Trijod-3-hydroxybenzoesäure einen Chinoniminfarbstoff, dessen Farbintensität direkt proportional zu der Creatininkonzentration ist und photometrisch bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen werden kann. Laut Herstellerangaben liegt die Wiederholpräzision (n=21) des Tests bei 0,9 %, die Zwischenpräzision (3 Aliquote pro Durchlauf, 1 Durchlauf pro Tag, 21 Tage) bei 1,1 %.

3.7.3.4 Triglyceride

Um die Konzentration der Triglyceride mithilfe des Test-Kits „Triglyceride GOP-PAP“ von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim) zu bestimmen, werden mittels einer Lipoproteinlipase aus Mikroorganismen Triglyceride zu Glycerin hydrolysiert und anschließend zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid oxidiert. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet unter der katalytischen Wirkung der Peroxidase mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol einen roten Farbstoff, dessen Intensität direkt proportional zur Triglyceridkonzentration ist und photometrisch bei einer Wellenlänge von 505 nm gemessen werden kann. Laut Herstellerangaben liegt der Variationskoeffizient (n=63) innerhalb einer Serie von gemessenen Werten bei 1,5 % und bei unterschiedlichen Meßläufen bei 1,8 %.

3.7.3.5 β -Hydroxybutyrat

Mittels dem „D-3-Hydroxybutyrate“ Test-Kit von Randox Laboratories Ltd. (Crumlin, Nordirland) wurde die Konzentration von β -Hydroxybutyrat im Plasma bestimmt. β -Hydroxybutyrat wird hierbei durch die β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase zu Acetoacetat oxidiert. Gleichzeitig wird NAD zu NADH + H⁺ reduziert. Die damit verbundene Absorptionsänderung bei einer Wellenlänge von 340 nm korreliert direkt mit der β -Hydroxybutyrat Konzentration. Die Präzision, bestimmt anhand von Proben

einer weiteren zeitgleich laufenden Untersuchung, lag bei 1,69 % (n=8) innerhalb eines Durchlaufs. Bei Messung einer Probe in zwei verschiedenen Durchgängen betrug der Variationskoeffizient 4,9 % (n=40). Da einige Werte außerhalb des Referenzbereiches lagen, wurde eine Verdünnung mit destilliertem Wasser angefertigt. Bei der 1:3 Verdünnung lag die Abweichung vom Ausgangswert bei 2,93 % (n=18).

3.7.3.6 Glucose

Das enzymatische Reaktionsprinzip der Bestimmung (Test-Kit „Gluco-quant Glucose/HK“ von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim)) besteht darin, dass Glucose mittels Hexokinase und ATP zu Glucose-6-Phosphat phosphoryliert wird, welches in Gegenwart von NADP durch die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zu Gluconat-6-Phosphat oxidiert wird. Das dabei entstehende NADPH + H⁺ ist direkt proportional zur Glucosekonzentration und kann photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen werden. Laut Herstellerangaben liegt die Wiederholpräzision (n=63) des Tests bei 1 %, die Zwischenpräzision bei 1,7 %.

3.7.4 Insulin

Der DIAsource INS-IRMA (Insulin-Immuno-radiometric Assay) der Firma DIAsource ImmunoAssays S. A., Nivelles, Belgien, diente zur Erfassung des Insulins im Kälberplasma. Ein wichtiges Testprinzip des IRMAs ist, dass die mitgelieferten Teströhrchen bereits mit einem „Fängerantikörper“ beschichtet sind. In diese Röhrchen gibt man die Proben, die allerdings zunächst noch eine niedrige Affinität zum Fängerantikörper zeigen. Gibt man nun den 2. Antikörper, einen mit ¹²⁵I markierten Signalantikörper, dazu, wird das System vervollständigt und die immunologische Antigen-Antikörper-Reaktion getriggert. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder. Mithilfe eines Gammazählers (1470 Wizard TM, Automatic Gamma Counter der Firma Wallac Oy, Turku, Finnland) wurde die Radioaktivität gemessen.

Der Hersteller hat einige Leistungsmerkmale des Testkits und Grenzen der Methodik ermittelt: Laut Herstellerangaben liegt die Nachweisgrenze, definiert als die

scheinbare Konzentration bei 2 Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, bei 1µIU/ml. Bei Prüfung auf Spezifität hat sich ergeben, dass Rinderinsulin (der Test wird für die Erfassung von humanem Insulin vertrieben) eine Kreuzreaktivität von >100 % zeigt. Die Präzision wurde mit 2 verschiedenen Sera vom Hersteller bestimmt. Dabei ergab sich bei jeweils n=10 ein Variationskoeffizient von 2,1 % bzw. 1,5 % bei Messung innerhalb 1 Assays, bei dem Vergleich von mehreren Assays war der Variationskoeffizient bei 6,5 % bzw. 6,1 %. Die mittlere Wiederfindungsrate lag nach Herstellerangaben bei 100,1 %. Die Herstellerangaben zu einem Verdünnungstest sind in Tabelle 3.7.4.1 zu finden. Tabelle 3.7.4.2 mit Herstellerangaben zeigt, dass die Genauigkeit des Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe mit einer zeitlichen Verzögerung von 30 min nach Zugabe des Standards in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

Tab. 3.7.4.1: Insulin-Mengen in einer Serum-Verdünnungsreihe
(Herstellerangaben)

Probe	Verdünnung	Theoretische Konzentration (pmol/l)	Gemessene Konzentration (pmol/l)
Serum 1	1/1		724,68
	1/2	362,34	330,05
	1/4	181,53	150,68
	1/8	90,41	78,93
	1/16	45,20	44,49
Serum 2	1/1		2353,40
	1/2	1176,70	1090,60
	1/4	588,35	545,30
	1/8	294,18	258,30
	1/16	147,09	129,15

Tab. 3.7.4.2: Wiederholungsmessungen von Insulin mit einer Zeitdifferenz von 30 Minuten (Herstellerangaben)

Probe	0` (pmol/l)	30` (pmol/l)
Serum 3	57,40	50,23
Serum 4	114,80	121,98
Serum 5	265,48	301,35
Serum 6	581,18	588,35

Da dieser Test-Kit für Bestimmung von humanem Insulin in Serum konzipiert ist, wurde vor dessen Anwendung für Kälberinsulin in Plasmaproben eine eigene Validierung des Testes für diese Bedingungen durchgeführt.

3.8 Validierung des INS-IRMA´s

3.8.1 Gewinnung des Materials für die Validierung

Bei einer Jungkuh der Klinik für Wiederkäuer am Oberwiesefeld wurde durch Glucose-Kurzzeitinfusion in die V. jugularis eine nachfolgende zeitabhängige Hyperinsulinämie im Blutplasma provoziert: Unmittelbar nach der Entnahme einer 0-Wert-Probe (Plasma A) wurde mittels einer sterilen 40 % igen Glucoselösung (Henry Schein Vet GmbH, Hamburg) innerhalb von ca. 3 min eine Glucosedosis von 1 g pro metabolischem Körpergewicht ($\text{kg}^{0,75}$) verabreicht. Nach der Glucose-Kurzzeitinfusion wurde im Abstand von 14 Minuten (Plasma B), 28 Minuten (Plasma C) und 42 Minuten (Plasma D) zur abgeschlossenen Glucoseinfusion Blut durch den Venenverweilkatheter entnommen. Es wurden jeweils mit Kalium-EDTA beschichtete Monovetten der Firma Sarstedt (Nümbrecht) verwendet und sogleich nach der Entnahme bis zur weiteren Verarbeitung auf Eis gekühlt. Im benachbarten Labor wurden die Proben bei 3.000 U/min für 10 min bei einer Temperatur von 4° C zentrifugiert, anschließend das Plasma portioniert und in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Die Lagerung bis zur Analyse erfolgte bei -80° C.

3.8.2 Ermittlung der Glucose- und Insulinwerte

Die Bestimmung der Glucosewerte erfolgte mithilfe eines Hitachi Automatic Analyzer 912, Firma Roche Diagnostics GmbH (Mannheim), der Medizinischen Kleintierklinik (siehe 3.7.3.6).

Die Insulinwerte im Plasma A, B, C und D wurden über den INS-IRMA jeweils im Doppelansatz bestimmt.

Tab. 3.8.2: Durch Glucose-Kurzzeitinfusion provozierte Glucose- und Insulinwerte im Blutplasma einer Jungkuh

Plasma-gewinnung in min	Glucose (mmol/l)	Ansatz 1 Insulin (pmol/l)	Ansatz 2 Insulin (pmol/l)	MW \pm SD Insulin (pmol/l)	VK Insulin (%)
0 (A)	4,72	279,90	301,57	290,73 \pm 15,35	5,27
17 (B)	12,1	4916,81	3926,66	4421,74 \pm 700,14	15,83
31 (C)	8,69	1783,49	1802,07	1792,82 \pm 13,13	0,73
45 (D)	6,8	736,01	711,62	723,81 \pm 17,22	2,38

3.8.3 Präzision, Wiederfindung, Verdünnung

Des Weiteren wurde die Präzision der Insulinmessung (siehe Tabelle 3.8.3.1) anhand von Kälberplasma (Plasma E) bestimmt, sowie ein Wiederfindungs- und ein Verdünnungstest durchgeführt.

Tab. 3.8.3.1: Präzision der Insulinmessung mittels INS-IRMA

Plasma (n=10)	MW \pm SD (pmol/l)	VK (%)
E	131,80 \pm 8,11	6,17

Zur Bestimmung der Insulin-Wiederfindung wurde die Plasmaprobe zum Zeitpunkt 31 min (C), die aufgrund der vorangegangenen Glucose-Kurzzeitinfusion eine hohe Konzentration an Insulin enthält, in bekannter Menge zu zwei verschiedenen Proben (Plasma A und Plasma E) zugegeben. Nun wurden die Insulinkonzentrationen von A, E und C einzeln und von den gemischten Proben AC und EC gemessen. Aus den Proben A, E und C wurden auch die theoretischen Werte von AC und EC errechnet. So war ein Vergleich zwischen den errechneten und den gemessenen Werten möglich (siehe Tabelle 3.8.3.2).

Tab. 3.8.3.2: Wiederfindung von Insulin bei der Nutzung des INS-IRMA

Plasma- probe	Enthaltenes Insulin (pmol/l)	Zugegebe- nes Insulin (C) (pmol/l)	Errechnetes Insulin (pmol/l)	Gemessen- es Insulin (pmol/l)	Wiederfindung (%)
A	145,37	896,37	1041,81	1026,53	98,53
E	65,87	896,37	962,31	948,75	98,53

Für die Verdünnung der Proben wurde, wie in der Packungsbeilage empfohlen, der Null-Kalibrator verwendet. Es wurden Doppelbestimmungen angesetzt und daraus der jeweilige Mittelwert errechnet (siehe Tabelle 3.8.3.3).

Tab. 3.8.3.3: Plasmaverdünnungsreihen für die Insulinmessung mittels INS-IRMA

Probe	Verdünnung	Theoretische Konzentration (pmol/l)	MW der gemessenen Konzentration (pmol/l)
Plasma A	1/1		290,73
	1/2	145,37	183,90
	1/3	96,93	162,80
	1/4	72,68	137,62
	1/8	36,38	79,57
	1/16	18,15	16,29
Plasma B	1/1		4421,74
	1/2	2210,90	2148,48
	1/3	1473,89	1369,35
	1/4	1105,45	1034,06
	1/8	552,69	483,67
	1/16	276,38	258,37
Plasma C	1/1		1792,82
	1/2	896,44	1041,67
	1/3	597,61	752,80
	1/4	448,22	573,78
	1/8	224,08	299,63
	1/16	112,07	163,66
Plasma D	1/1		723,81
	1/2	361,91	417,30
	1/3	241,30	318,43
	1/4	180,95	271,72
	1/8	90,48	136,18
	1/16	45,27	70,53

In Abbildung 3.8.3 sind die Ergebnisse der Verdünnungsreihen graphisch aufgetragen. Man kann erkennen, dass die Linearität in den verschiedenen Konzentrationsbereichen, und damit auch im relevanten Messbereich, gegeben ist.

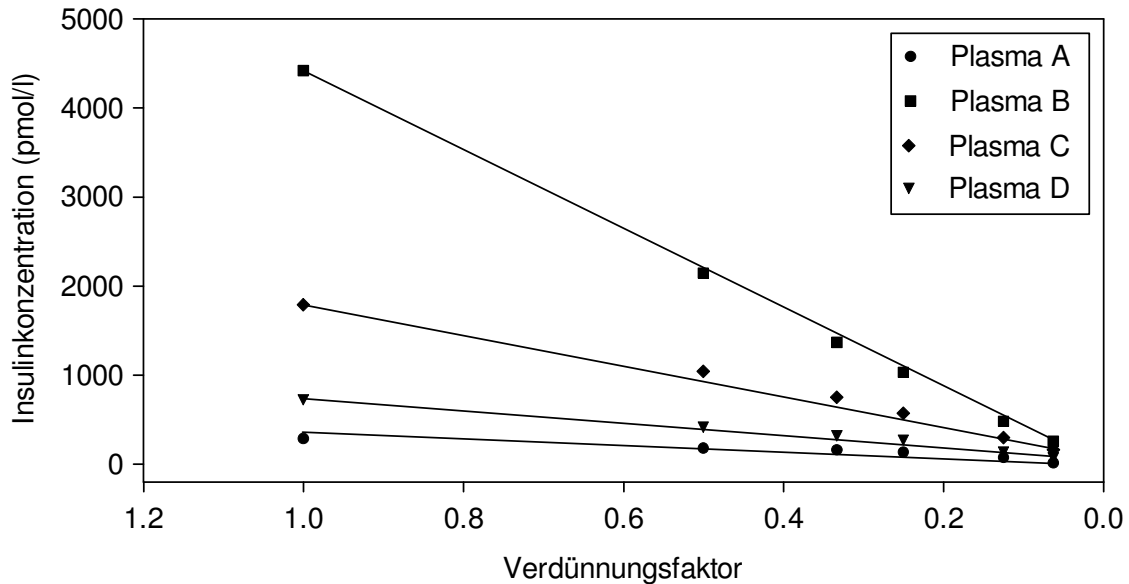


Abb. 3.8.3: Linearität der Verdünnungsreihen des Insulins

Da auch die Ergebnisse aus der Testvalidierung zufriedenstellend waren, sprach nichts gegen eine Bestimmung der Insulinwerte aus den Kälber-Plasmaproben mittels INS-IRMA.

3.9 Weitere Berechnungen und statistische Methoden

Die technische Bearbeitung der Proben für die Bestimmung einiger Parameter (z.B. Enteiweißung für die Allantoinbestimmung oder Extraktion für die Melatoninbestimmung) hatte Änderungen in der jeweiligen Plasmakonzentration zur Folge. Diese individuellen Konzentrationsänderungen wurden bei der Berechnung der Ergebnisse berücksichtigt.

Auffällig hohe bzw. niedrige Messwerte wurden mittels eines Ausreißer-Testes überprüft. Dabei wurden die Datenreihen für die Mittelwertsberechnung von Plasmametern von solchen Werten bereinigt, die höher bzw. niedriger waren als der Mittelwert $\pm 3 \cdot \sigma$. Bei den Parametern Harnstoff, Glucose und den Triglyceriden wurde je ein Wert eliminiert, bei den Parametern Melatonin und Insulin jeweils zwei Werte.

Die Varianzanalyse (ANOVA, Analysis of Variance) ist ein Verfahren zur statistischen Bewertung von Mittelwertunterschieden zwischen mehr als zwei Gruppen. Da Normalverteilung und Varianzhomogenität für die Anwendung einer einfaktoriellen ANOVA vorausgesetzt werden, wurden die Daten mithilfe des Kolmogoroff-Smirnov-Test (Normalverteilung) und des Levene-Test (Varianzhomogenität) überprüft. Weil diese Bedingungen für die meisten Parameter nicht gegeben waren, wurde ein nicht-parametrischer Test, die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse, bevorzugt. Als Post Hoc Test – zum Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte – diente, je nach Parameter, entweder der Tukey Test oder die Dunn's Method. Dabei wurde ein Unterschied als statistisch signifikant angesehen, wenn $p < 0,05$.

Mit dem Statistikprogramm SigmaStat (Version 3.10., Copyright 2004 Systat Software, Inc., Chicago, Illinois) wurden die statistischen Tests durchgeführt; die Graphikprogramme SigmaPlot (Version 9.0., Copyright 2004 Systat Software, Inc., Chicago, Illinois) und Prism (Version 5.04, GraphPad Software, Inc., La Jolla, Kalifornien) dienen zur Erstellung der graphischen Abbildungen und berechneten Kurven der Ergebnisse.

3.10 Allgemeine Erläuterungen zur Darstellung der Ergebnisse in Tabellen und Abbildungen

Zu jedem in der Untersuchung erfassten Parameter werden Werte sowohl in einer Tabelle als auch in einer Abbildung wiedergegeben.

Aus den Tabellen des Ergebnisteiles (4) lässt sich ablesen, wie hoch die gemittelte Blutkonzentration (MW), die dazugehörige Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient (VK) des jeweiligen Parameters zu den verschiedenen Probeentnahmezeitpunkten waren. Die diesen Tabellen zugrunde liegenden Einzelwerte sind im Tabellenanhang (9) wiedergegeben.

Zur graphischen Veranschaulichung der zusammengefassten Ergebnisse werden Box plots verwendet. Eine exemplarische inhaltliche Erläuterung dieser Graphik ist in Abbildung 3.10 wiedergegeben. Innerhalb der Box, die durch das 25 %- und das 75 %-Perzentil begrenzt wird, befinden sich die mittleren 50 % der Messergebnisse. Zwischen dem 5 %- und dem 95 %-Perzentil befinden sich 90 % aller Messergebnisse. Durch die Lage des Medians innerhalb der Box wird ein Eindruck von der Schiefe der den Daten zugrunde liegenden Verteilung vermittelt.

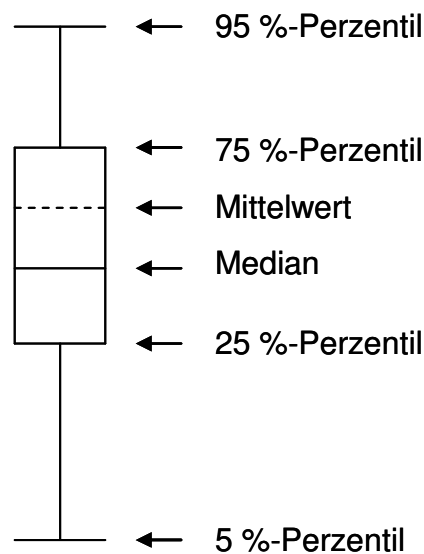


Abb. 3.10: Statistische Aussagen einer Box plot-Darstellung von Messergebnissen zu einzelnen Blutparametern

Der in den Graphiken und Tabellen in verschiedenen Grautönen gehaltene Hintergrund markiert unterschiedliche Fütterungsperioden mit deren Änderungen Ende der 2. und der 12. Lebenswoche. Die reine Milchfütterungsphase ist dabei weiß hinterlegt, die Umstellungsphase in einem hellen Grau und die Zeit nach dem Absetzen in einem dunkleren Grau.

Auch signifikante Unterschiede zwischen vergleichbaren Mittelwerten können den jeweiligen Tabellen entnommen werden.

Zusätzlich wurde bei manchen Parametern in einer separaten Abbildung eine mithilfe von Prism (siehe 3.9) berechnete Kurve durch die Mittelwerte gelegt, um die zeitabhängige Tendenz im Verlauf der Konzentration dieses Parameters über den Untersuchungszeitraum hinweg zu verdeutlichen.

4 ERGEBNISSE

4.1 Körpergewicht der Kälber

Aus Tabelle 4.1.1 lässt sich das mittlere Körpergewicht (in kg) der Kälber zu den drei vorgegebenen Wiegezeitpunkten – direkt nach der Geburt, Ende der 14. und Ende der 24. Lebenswoche – ablesen. Die Einzelwerte sind der Tabelle 4.1.1.A im Tabellenanhang zu entnehmen.

Tab. 4.1.1: **Mittleres Körpergewicht** (kg) \pm SD und VK (%) der Kälber (n=15)

Alter (Wochen)	0 (Geburt)		14	24
MW (kg)	39,31		104,06	177,75
SD	3,66		13,87	21,97
VK (%)	9,32		13,33	12,36

Diese Tabelle vertiefend zeigt Abbildung 4.1.1 in einer Box plot-Darstellung neben Mittelwert und Median die 25 %- und 75 %-Perzentile sowie die 5 %- und die 95 %-Perzentile. Auffällig dabei ist, dass das Geburtsgewicht der untersuchten Kälber oberhalb seines Medians scheinbar eine breitere Streuung aufzeigt als im unteren Bereich – dies suggeriert Abbildung 4.1.1 aufgrund des fehlenden unteren Whiskers. Richtig ist, dass hier der Minimalwert, das 10 %-Perzentil und das 25 %-Perzentil bei dem Körpergewicht von 35 kg zusammenfallen und es somit kein leichteres Kalb gab. Der Median und der Mittelwert fallen mit dem 75 %-Perzentil zusammen. Im Alter von 14 Wochen liegt der Median näher am 25 %-Perzentil. Um die Zeit des letzten Wiegens (24. Woche) schwanken die Gewichte sehr gleichmäßig, erkennbar an den nahe beieinander liegenden Mittelwert und Median und dem annähernd mittigen Lage beider Werte innerhalb der Box.

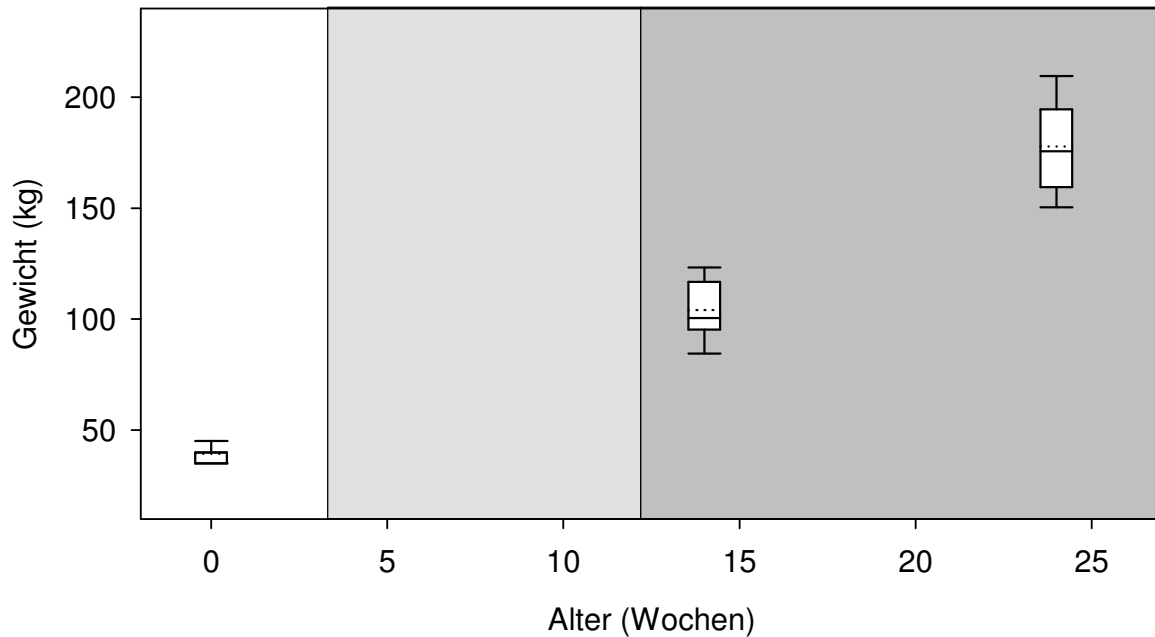


Abb. 4.1.1: **Box plot-Darstellung der Körpergewichte** (kg) von Kälbern (n=15)

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den Wiegezeitpunkten nach der Geburt, Ende der 14. und Ende der 24. Lebenswoche ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.1.2 entnommen werden.

Tab. 4.1.2: **Statistisch signifikante Unterschiede der Körpergewichte** von Kälbern (n=15; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Geburt vs. Woche 14	ja
Geburt vs. Woche 24	ja
Woche 14 vs. Woche 24	ja

Die Gewichtszunahmen der Kälber im Beobachtungszeitraum verlaufen, wie aus der Abbildung 4.1.2 zu erkennen ist, über die drei Messzeitpunkte gesehen, exponentiell ($y = 43,65e^{0,05886 \cdot x}$).

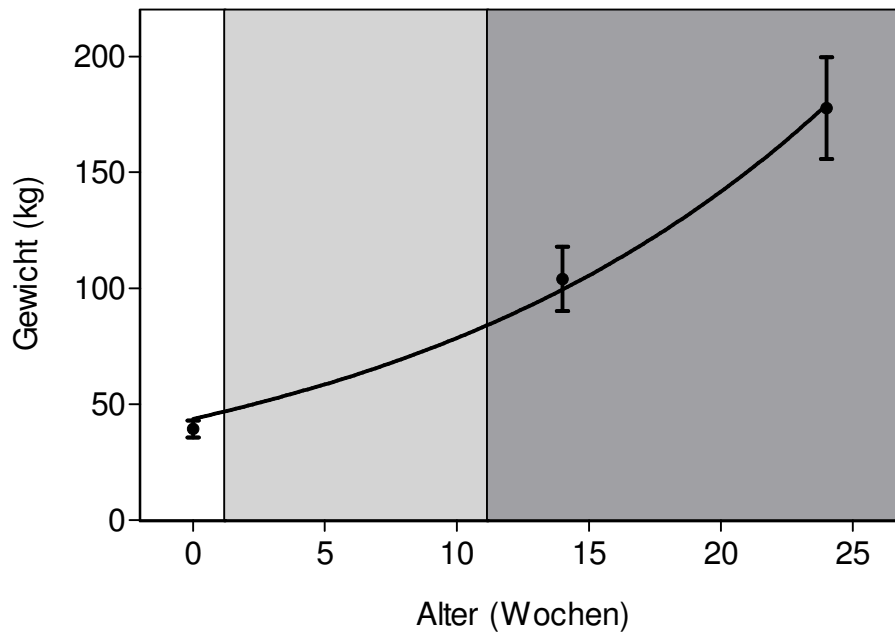


Abb. 4.1.2: **Berechneter Körpergewichtsverlauf der Kälber** anhand der Mittelwerte der drei Messzeitpunkte ($y=43,65e^{0,05886 \cdot x}$)

Die mittleren Zunahmen über den gesamten Untersuchungszeitraum (Geburt bis Ende der 24. Lebenswoche) berechnet ergeben einen Wert von $824,03 \pm 10,90$ g/d (VK=1,32 %). In den ersten 14 Lebenswochen liegen die Zunahmen bei $660,71 \pm 10,41$ g/d (VK=1,58 %) und in den darauf folgenden zehn Lebenswochen bei $1052,68 \pm 11,58$ g/d (VK=1,1 %).

4.2 Altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Metaboliten und Hormonen im Blutplasma

4.2.1 Allantoin

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Allantoins im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.1 (die Einzelwerte sind der Tabelle 4.2.1.A des Tabellenanhangs zu entnehmen) und Abbildung 4.2.1 wiedergegeben. Danach zeigen die Kälber im Alter von 1 Woche einen Allantoinspiegel von $282,68 \pm 108,53$ $\mu\text{mol/l}$, der bis zur 10. Woche signifikant ($p=0,015$) auf $171,46 \pm 37,72$ $\mu\text{mol/l}$ absinkt. Im weiteren Beobachtungszeitraum kommt es zwar zwischen der 10. und der 24. Lebenswoche zu einem Anstieg des Allantoins im Blutplasma um 21,54 %, diese

Konzentrationsänderung ist allerdings als tendenziell zu bezeichnen, da sie nicht signifikant ist.

Tab. 4.2.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Allantoinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW ($\mu\text{mol/l}$)	282,68	186,38	175,20	171,46	210,10	208,40
SD	108,53	52,82	38,44	37,72	121,30	56,25
VK (%)	38,39	28,34	21,94	22,00	57,73	26,99

Während die Standardabweichung und der Variationskoeffizient in der 1. Lebenswoche noch recht groß sind, sind sie in den nachfolgenden Lebenswochen (insbesondere zwischen 6. und 10. Woche) deutlich geringer (siehe Tabelle 4.2.1 und Abbildung 4.2.1). Eine Ausnahme bildet Woche 14 mit wiederum deutlich erhöhter Standardabweichung und deutlich erhöhtem Variationskoeffizienten. Hierfür verantwortlich sind allerdings nur die Allantoinkonzentrationen im Blutplasma von drei Tieren, die mit $355,92 \mu\text{mol/l}$, $437,75 \mu\text{mol/l}$ und $506,38 \mu\text{mol/l}$ (siehe Tabelle 4.2.1.A des Tabellenanhangs) deutlich über dem Durchschnitt der restlichen Werte ($154,29 \mu\text{mol/l}$) liegen. Dies ist auch der Grund dafür, dass der Mittelwert deutlich über dem Median, ja sogar über dem 75 %-Perzentil liegt und der Abstand zwischen 75 %- und 95 %-Perzentil so groß ist (siehe Abbildung 4.2.1).

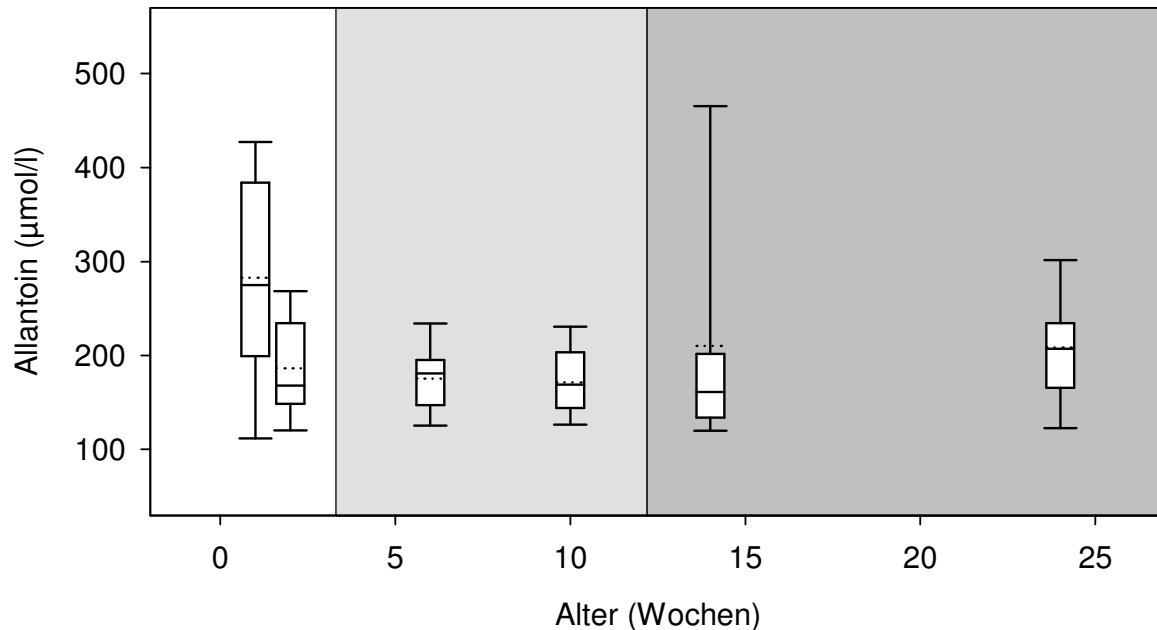


Abb. 4.2.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Allantoinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Die Abbildung eines berechneten Konzentrationsverlaufs und zugehöriger Gleichung erschien für den Parameter Allantoin nicht sinnvoll.

4.2.2 Hippursäure

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf der Hippursäure im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.2.1 (die Einzelwerte sind der Tabelle 4.2.2.1.A des Tabellenanhangs zu entnehmen) und in den Abbildungen 4.2.2.1 und 4.2.2.2 wiedergegeben. Danach lässt sich bei Kälbern im Alter von 1 und 2 Wochen noch keine Hippursäure im Blut nachweisen. Erst nach der 1. Futterumstellung, also mit dem Beginn der Aufnahme von fester Nahrung zusätzlich zum Milchaustauscher, steigen die Mittelwerte langsam an. Bis zur 10. Lebenswoche ist der Mittelwert signifikant erhöht. Auch zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten 6. und 14. Woche erweist sich der Anstieg als signifikant (siehe Tabelle 4.2.2.2). Wie Abbildung 4.2.2.2 zeigt, ist zwischen den beiden Entnahmezeitpunkten 6. und 14. Woche ein rascher sigmoider Anstieg der Hippursäurekonzentration im Blutplasma der Kälber wahrscheinlich, denn zwischen der 14. und 24. Lebenswoche flacht er rasch plateauartig ab. Bemerkenswert ist, dass während dieses Hippursäurekonzentrationsanstieges bis

zur 14. Woche auch die Standardabweichung erheblich zunimmt. Zur 24. Lebenswoche fällt sie dann wieder deutlich geringer aus (siehe Tabelle 4.2.2.1 und Abbildung 4.2.2.2). Der Variationskoeffizient hingegen ist, wie aus Tabelle 4.2.2.1 hervorgeht, in der Phase der Futterumstellung (6.-10. Woche) am größten und fällt zur 14. Woche hin bereits wieder deutlich (um 26,14 %) ab.

Tabelle 4.2.2.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Hippursäurekonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW ($\mu\text{mol/l}$)	0,00	0,00	5,86	21,87	52,52	56,64
SD	0,00	0,00	3,70	15,29	27,13	14,16
VK (%)	0,00	0,00	63,17	69,93	51,65	25,00

Aus Abbildung 4.2.2.1 wird die Tatsache deutlich, dass in der 10. Lebenswoche der Mittelwert mit 21,87 $\mu\text{mol/l}$ gegenüber dem Median mit 17,08 $\mu\text{mol/l}$ höher liegt und außerdem der Abstand zwischen Median und dem 95 %-Perzentil größer ist als der zwischen Median und dem 5 %-Perzentil. Dies bedeutet, dass die Hippursäurekonzentration im Kälberplasma sich bei der Mehrheit der untersuchten Tiere im niedrigeren Bereich befindet (siehe auch die Einzelwerte in Tabelle 4.2.2.1.A des Tabellenanhangs). Ende der 24. Lebenswoche dagegen stellen sich diese Werte wieder sehr ausgeglichen dar, der Mittelwert (56,64 $\mu\text{mol/l}$) deckt sich annähernd mit dem Median (56,82 $\mu\text{mol/l}$) und auch die Verteilung zwischen 5 %- und 95 %-Perzentil ist sehr gleichmäßig.

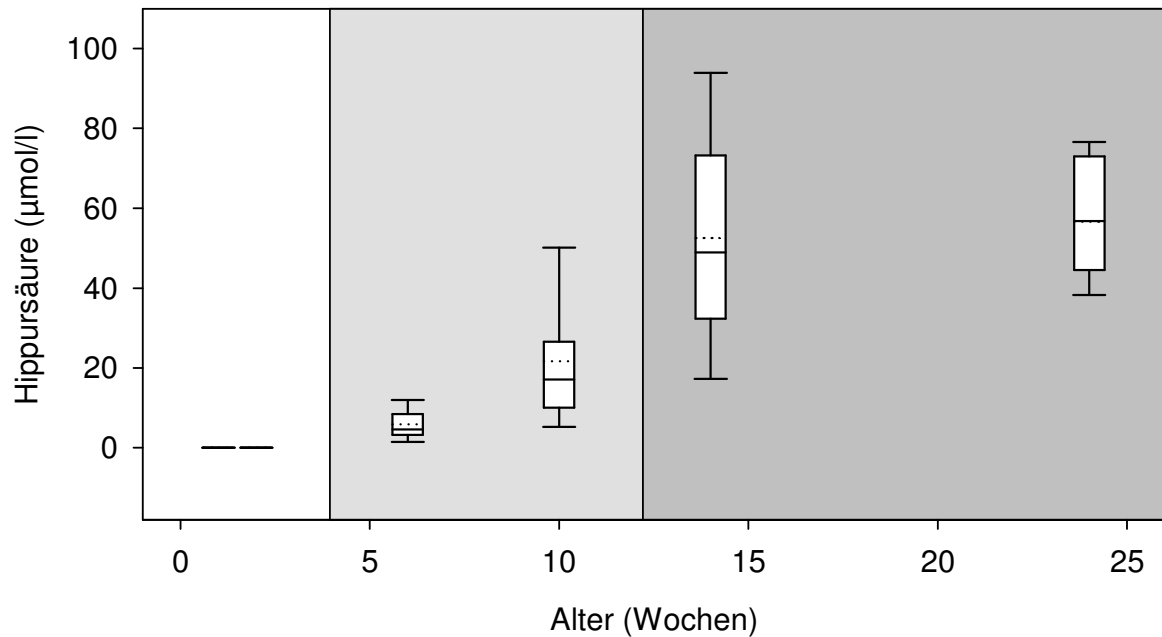


Abb. 4.2.2.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Hippursäurekonzentration (µmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes ergibt die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse signifikante Konzentrationsunterschiede der Hippursäure im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.2.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.2.2: Statistisch signifikante Unterschiede der Hippursäurekonzentration im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Tukey Test; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	ja
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	ja
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	ja
Woche 2 vs. Woche 14	ja
Woche 2 vs. Woche 24	ja
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	ja
Woche 6 vs. Woche 24	ja
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	nein

Anhand des Konzentrationsverlaufs in Abbildung 4.2.2.2 kann man erkennen, dass mit dem Beginn der Aufnahme festen Futters die Hippursäure im Blut zunächst langsam ansteigt. Gegen Ende der Umstellungsphase – die Kälber nehmen deutlich steigende Mengen fester Nahrung zu sich – kommt es zu einem steilen Anstieg der Hippursäurekonzentration im Blut. Überraschenderweise ist zwischen der 14. und 24. Woche trotz weiter steigender Futteraufnahme nur noch eine sehr mäßige Hippursäurekonzentrationsänderung zu verzeichnen.

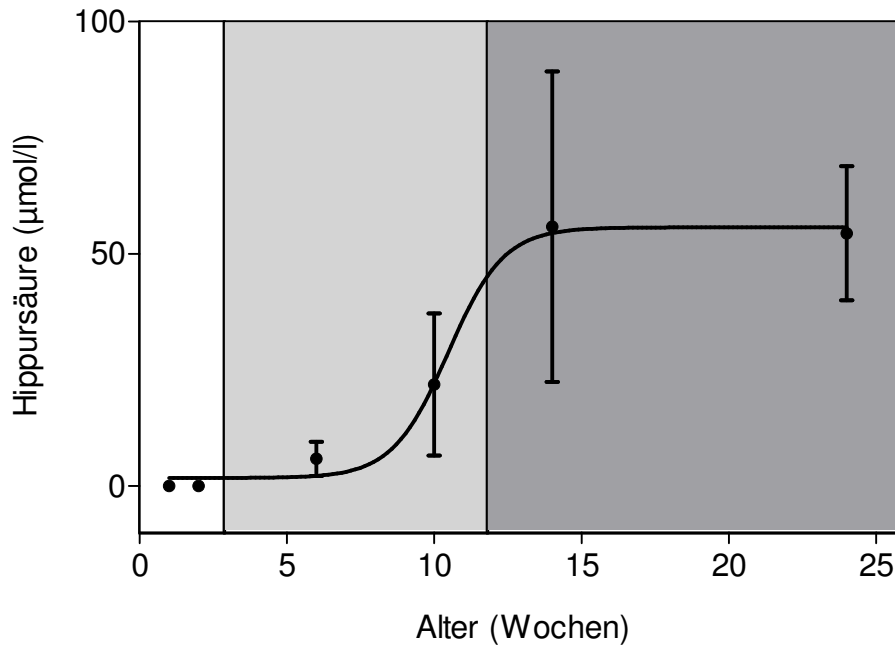


Abb. 4.2.2.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Hippursäure im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; $y=1,743+53,957/(1+10^{((10,47-x)^{0,4618}))})$)

4.2.3 Pseudouridin

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Pseudouridins im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.3.1 (die Einzelwerte sind der Tabelle 4.2.3.1.A des Tabellenanhangs zu entnehmen) und in den Abbildungen 4.2.3.1 und 4.2.3.2 wiedergegeben. Danach zeigen die Kälber im Lebensalter von 1 Woche eine mittlere Pseudouridinkonzentration im Plasma von $6,93 \pm 2,52 \mu\text{mol/l}$. Schon am Ende der 2. Lebenswoche ist der Wert signifikant um fast 50 % auf $3,54 \pm 2,01 \mu\text{mol/l}$ gesunken. Bis zum nächsten Blutentnahmezeitpunkt (6. Woche) sinkt die Pseudouridinkonzentration nur noch geringfügig (ca. 26 %).

Die Standardabweichung verringert sich im Verlauf der ersten vier Blutentnahmen deutlich, um dann bei den letzten beiden Blutentnahmezeitpunkten auf einem geringeren Niveau relativ konstant zu bleiben. Der Variationskoeffizient hingegen ist in der Phase der beginnenden Entwöhnung (2.-6. Woche) gegenüber den anderen Blutentnahmezeitpunkten deutlich höher (siehe Tabelle 4.2.3.1).

Tabelle 4.2.3.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Pseudouridin-konzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW ($\mu\text{mol/l}$)	6,93	3,54	2,63	2,43	2,87	2,69
SD	2,52	2,01	1,53	0,80	0,87	0,67
VK (%)	36,40	56,74	58,42	32,82	30,36	24,72

In der Box plot-Darstellung (Abbildung 4.2.3.1) fällt auf, dass zum 1. Untersuchungszeitpunkt gegenüber den anderen Beobachtungszeitpunkten die Box sehr groß ist, also eine größere Verteilung an Ausprägungen zwischen dem 25 %- und dem 75 %-Perzentil besteht. Dies ist offensichtlich besonders den Werten zwischen Median und 75 %-Perzentil geschuldet. Mittelwert und Median differieren, im Gegensatz zu den anderen Untersuchungszeitpunkten, im Alter von 1 Woche deutlich: Während der Mittelwert bei $6,93 \mu\text{mol/l}$ liegt, ist der Median bei $5,94 \mu\text{mol/l}$.

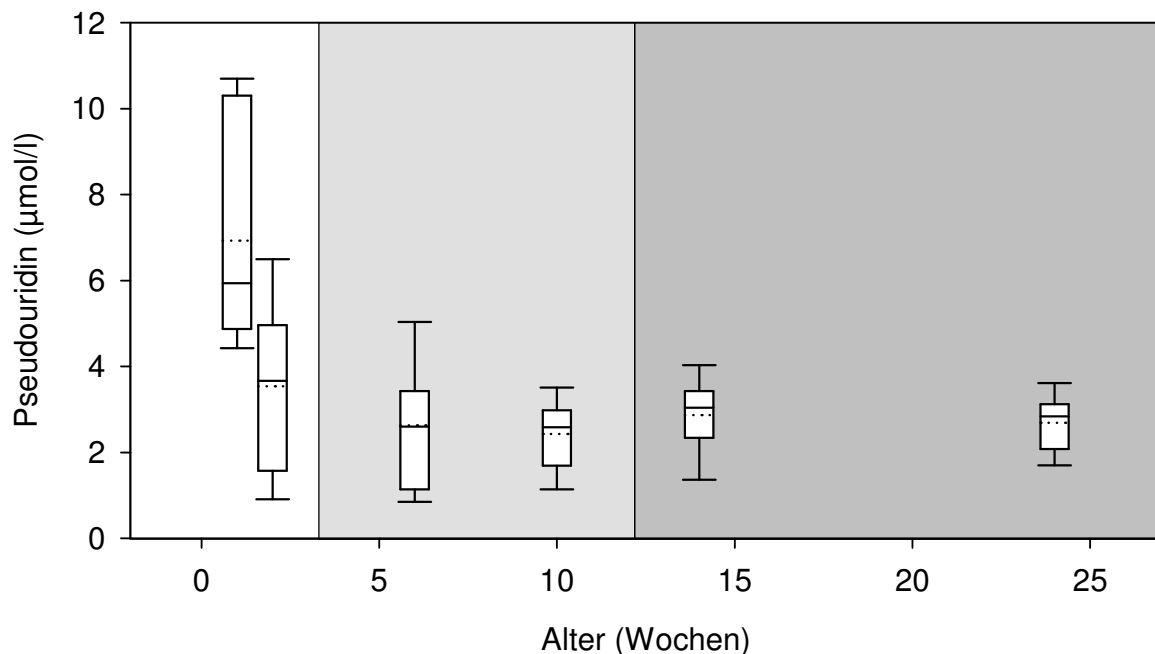


Abb. 4.2.3.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Pseudouridin-konzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede des Pseudouridins im Kälberplasma während des Beobachtungszeitraums ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.3.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.3.2: Statistisch signifikante Unterschiede der Pseudouridinkonzentration im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; Post Hoc Test: Tukey Test; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	ja
Woche 1 vs. Woche 6	ja
Woche 1 vs. Woche 10	ja
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	ja
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	nein
Woche 2 vs. Woche 24	nein
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	nein
Woche 6 vs. Woche 24	nein
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	nein

Die Verlaufskurve der Pseudouridinkonzentration in Abbildung 4.2.3.2 zeigt deutlich, dass die einzige markante Veränderung der Pseudouridinkonzentration während der reinen Milchphase der Kälber stattfindet. Hier verringert sich die Konzentration zur 2. Lebenswoche in signifikanter Weise auf fast die Hälfte, während sie dann im weiteren Verlauf bereits ab der 6. Lebenswoche annähernd konstant bleibt.

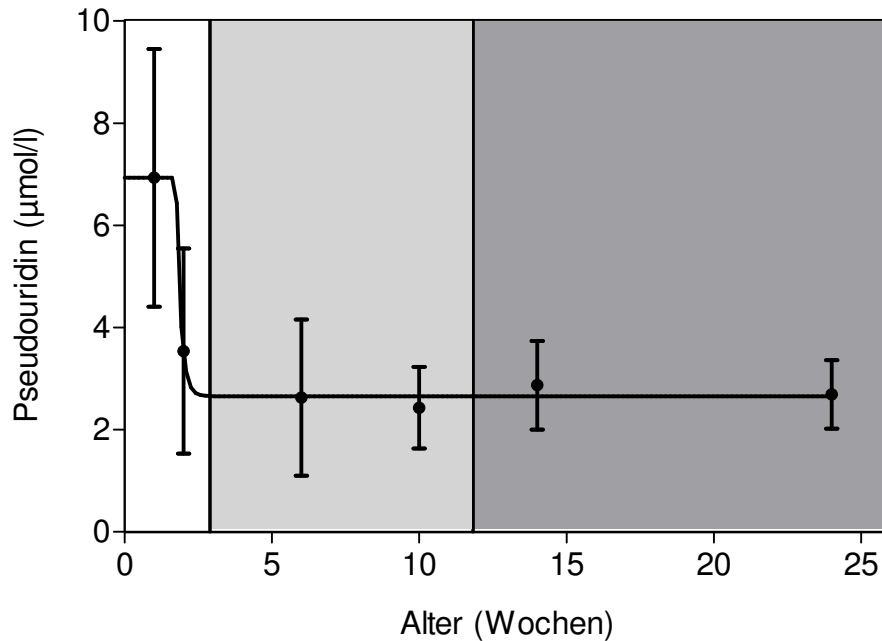


Abb. 4.2.3.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Pseudouridin im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; $y=\text{if}(x<x_0,y_0,\text{Plateau}+(y_0-\text{Plateau})\cdot\exp(-k\cdot(x-x_0)))$) wobei $x_0\sim 1,752$; $y_0=6,930$; $\text{Plateau}=2,655$; $k\sim 6,357$)

4.2.4 Melatonin

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Melatonins im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.4 und in den Abbildungen 4.2.4.1 und 4.2.4.2 wiedergegeben. Danach zeigen die Kälber innerhalb des Untersuchungszeitraumes keine signifikanten Änderungen im Konzentrationsverlauf des Melatoninspiegels im Blutplasma ($p=0,705$). Möglicherweise ist dies durch die großen und stark wechselnden Standardabweichungen bei den Mittelwerten zu den verschiedenen Altersklassen bedingt. Besonders hoch sind Standardabweichung und Variationskoeffizient am Ende der Milchphase und mit Beginn der Entwöhnungsphase, also bei den 2 und 6 Wochen alten Kälbern. In der Phase der ausschließlichen Fütterung mit Festfutter nehmen sie wieder ab.

Tabelle 4.2.4: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Melatoninkonzentration ($\mu\text{g/l}$) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW ($\mu\text{g/l}$)	0,05	0,16	0,18	0,16	0,11	0,08
SD	0,06	0,28	0,32	0,18	0,12	0,09
VK (%)	117,37	172,58	178,14	109,02	116,17	106,26

In Abbildung 4.2.4.1 fallen zu allen Untersuchungszeitpunkten das 5 %- und das 25 %-Perzentil zusammen. Dies liegt daran, dass während des gesamten Beobachtungszeitraumes bei mehreren Tieren überhaupt kein Melatonin im Blut nachzuweisen war (siehe auch Einzelwerte in Tabelle 4.2.4.A des Tabellenanhangs).

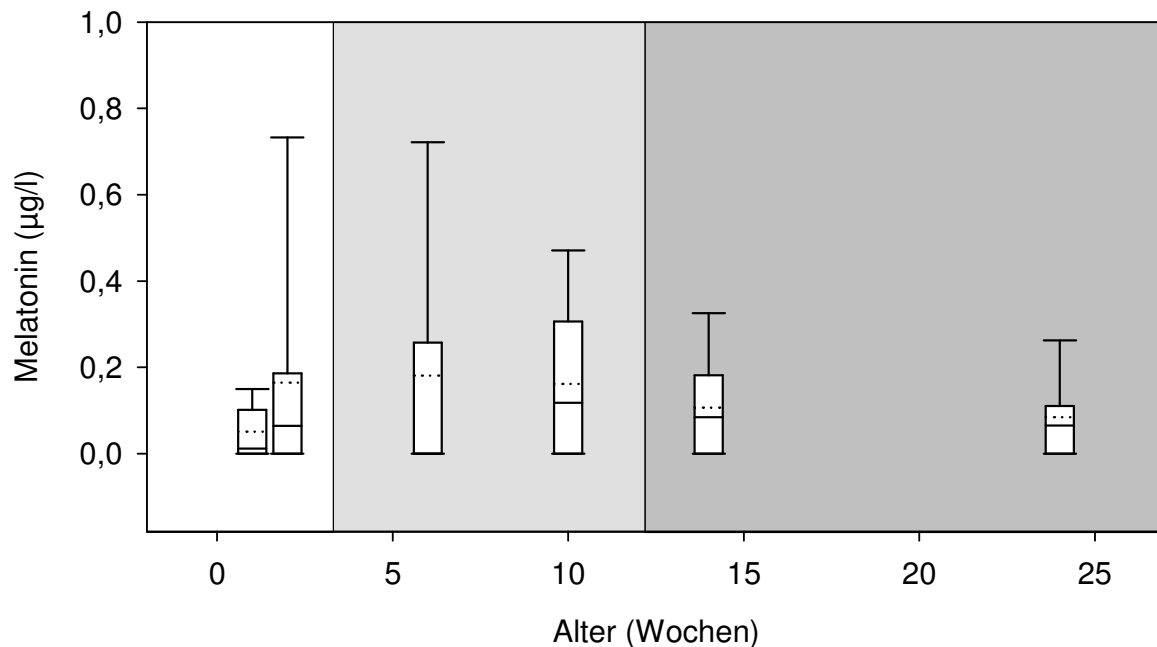


Abb. 4.2.4.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Melatoninkonzentration ($\mu\text{g/l}$) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Obwohl sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der altersabhängigen Melatoninkonzentration ergeben, so lässt sich doch anhand des mittleren Konzentrationsverlaufes (in Abbildung 4.2.4.1 und Abbildung 4.2.4.2) und der dazugehörigen SD-Werte eine gewisse „Unruhe“, insbesondere während der Entwöhnungsphase erkennen.

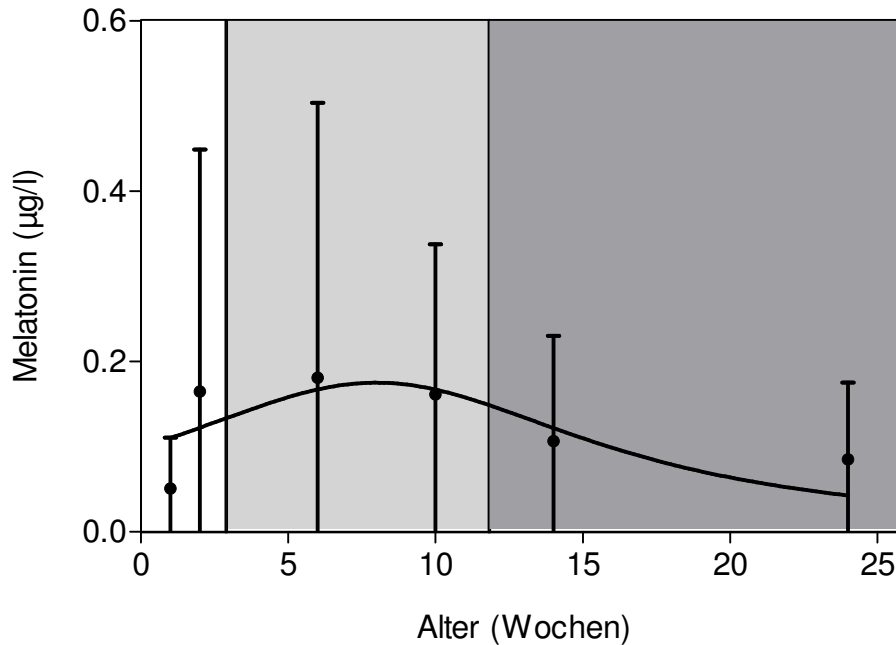


Abb. 4.2.4.2: **Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Melatonin** im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; $y=0,1752/(1+((x-7,989)/9,104)^2)$)

4.2.5 Gesamtprotein

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Gesamtproteins im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.5.1 (die Einzelwerte sind der Tabelle 4.2.5.1.A des Tabellenanhangs zu entnehmen) und in den Abbildungen 4.2.5.1 und 4.2.5.2 wiedergegeben. Danach zeigt die mittlere Proteinkonzentration während der ersten beiden Lebenswochen mit $56,19 \pm 6,69$ g/l bzw. mit $56,77 \pm 6,70$ g/l praktisch keine Veränderung. Während der Umstellungsphase ist eine tendenzielle Steigerung – um 3,52 % zwischen Woche 2 und Woche 6 und um 8,94 % zwischen Woche 6 und Woche 10 – der Gesamtproteinkonzentration im Blutplasma zu beobachten. Gegen Ende der Entwöhnungsphase (10. Woche) ist dieser Anstieg im Vergleich zu den ersten drei Untersuchungszeitpunkten signifikant (siehe Tabelle 4.2.5.2). In der Phase der reinen Festfuturaufnahme, also zwischen der 14. und 24. Lebenswoche, bleibt die Gesamtproteinkonzentration auf weitgehend gleichbleibendem Niveau (siehe Abbildung 4.2.5.1 und Abbildung 4.2.5.2).

Tabelle 4.2.5.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Gesamtproteinkonzentration (g/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (g/l)	56,19	56,77	58,77	64,54	73,37	72,61
SD	6,69	6,70	4,98	6,76	6,95	4,56
VK (%)	11,91	11,80	8,48	10,48	9,48	6,27

Aus Tabelle 4.2.5.1 wird deutlich, dass die Untersuchungszeitpunkte 1, 2, 4 und 5 nahezu identische Standardabweichungen ergeben haben, während die der 6. und der 24. Lebenswoche sich auf einem etwas niedrigeren Niveau befinden. Der Variationskoeffizient fällt im Beobachtungszeitraum von knapp 12 % (1. Woche) auf die Hälfte zur 24. Lebenswoche ab.

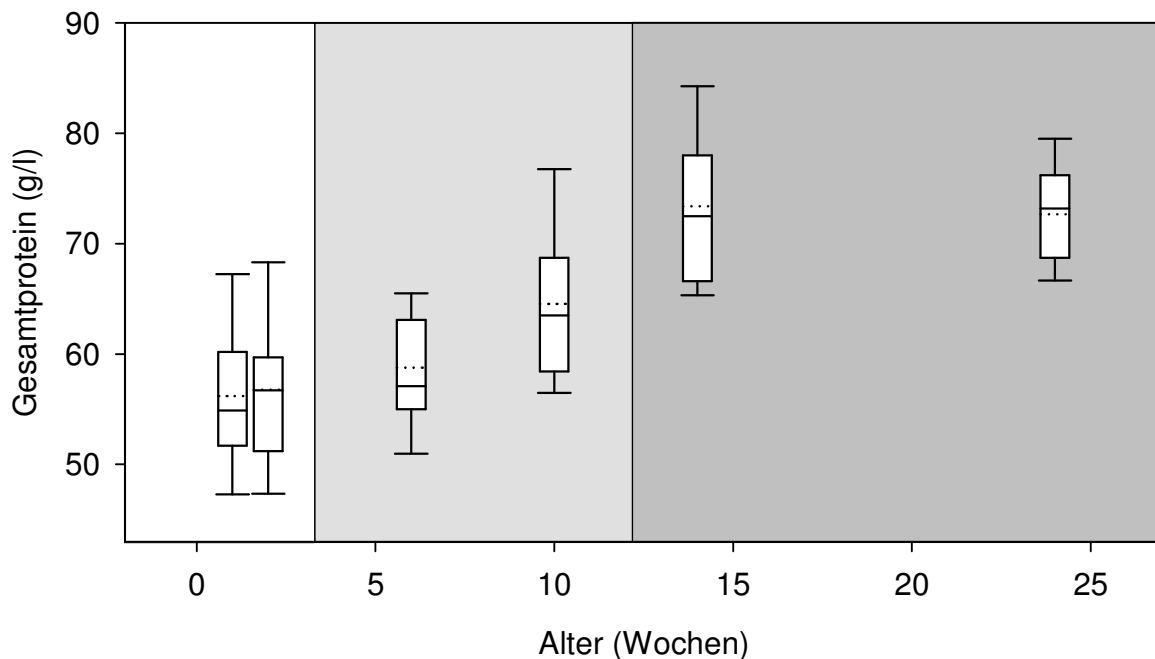


Abb. 4.2.5.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Gesamtproteinkonzentration (g/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede für das Gesamtprotein im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.5.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.5.2: **Statistisch signifikante Unterschiede der Gesamtproteinkonzentration** im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Tukey Test; Signifikanzvorgabe p<0,05)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	nein
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	ja
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	ja
Woche 2 vs. Woche 24	ja
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	ja
Woche 6 vs. Woche 24	ja
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	nein

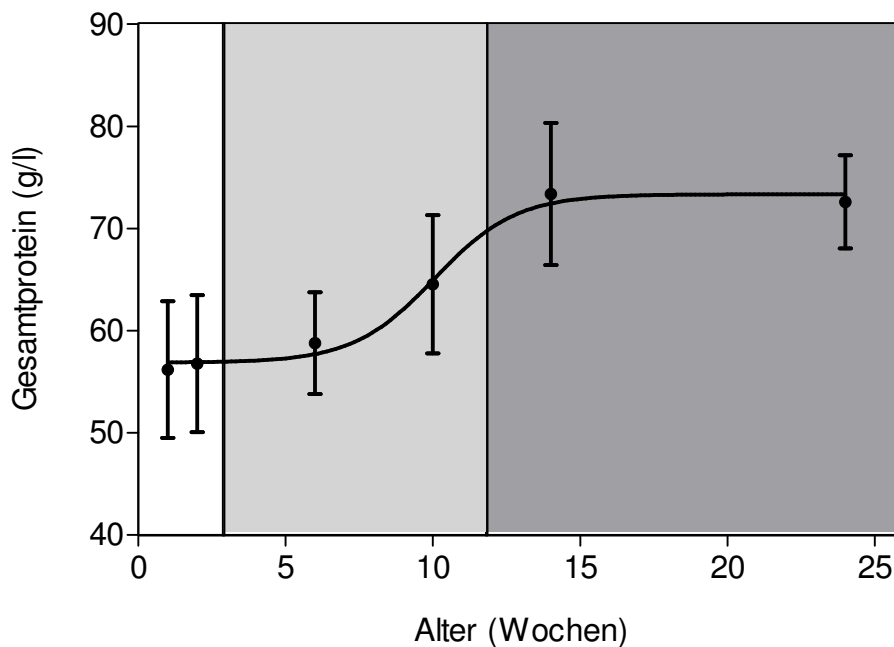


Abb. 4.2.5.2: **Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Gesamtprotein** im Blutplasma von Kälbern (n=15; $y=56,88+16,47/(1+10^{((10,06-x)*0,3142)})$)

4.2.6 Harnstoff

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Harnstoffs im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.6.1 und in der Abbildung 4.2.6 wiedergegeben. Danach kommt es bereits in der Phase der reinen Milchernährung zu einem Abfall der Harnstoffkonzentration im Plasma der Kälber, der bis zur 10. Lebenswoche signifikant wird (siehe Tabelle 4.2.6.2). Mit ca. 36 % ist die stärkste Konzentrationsabnahme zwischen der 1. ($3,40 \pm 1,59$ mmol/l) und der 2. ($2,18 \pm 0,76$ mmol/l) Lebenswoche zu beobachten. Bis zur 10. Lebenswoche fällt der Wert weiter, auf $1,84 \pm 0,37$ mmol/l (ca. -46 %). Innerhalb der darauf folgenden vier Wochen steigt die Harnstoffkonzentration wieder signifikant (um 70,65 %) auf $3,14 \pm 1,01$ mmol/l an und geht dann allmählich in der Phase der reinen Festfutter-Fütterung in ein Plateau über, sodass zur 24. Woche mit $3,32 \pm 0,84$ mmol/l annähernd der Ausgangswert der 1. Woche erreicht wird.

Tabelle 4.2.6.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Harnstoffkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (mmol/l)	3,40	2,18	2,22	1,84	3,14	3,32
SD	1,59	0,76	0,67	0,37	1,01	0,84
VK (%)	46,94	34,93	30,21	20,07	32,16	25,29

Abbildung 4.2.6 veranschaulicht, dass die Harnstoffkonzentrationen im Plasma bei den beprobten Kälbern nach der 1. Lebenswoche sehr unterschiedlich ausfallen: zwischen 1,11 mmol/l und 6,34 mmol/l (für weitere Einzelwerte siehe Tabelle 4.2.6.1.A des Tabellenanhangs). Daraus ergeben sich auch die hohen Werte für Standardabweichung und Variationskoeffizient beim 1. Untersuchungszeitpunkt (siehe Tabelle 4.2.6.1). Über die Hälfte der Werte liegen dabei unter 3 mmol/l, was erklärt, warum sich der Median mit 2,89 mmol/l unter dem Mittelwert mit 3,40 mmol/l bewegt. Im Beobachtungszeitraum nehmen Standardabweichung und Variationskoeffizient zunächst ständig ab, um in der 10. Woche mit VK=20 % den Tiefststand zu erreichen. In der 14. und 24. Woche fallen sie wieder etwas größer aus, sie liegen im Bereich von 25-30 %.

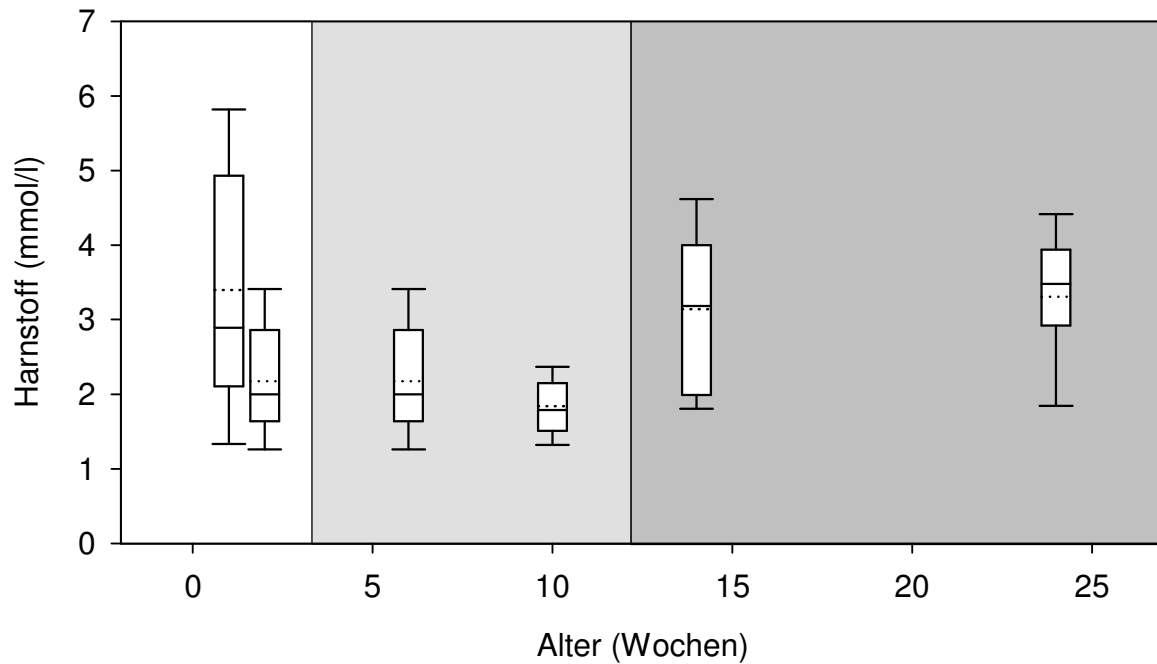


Abb. 4.2.6: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Harnstoffkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede für den Harnstoffgehalt im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.6.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.6.2: Statistisch signifikante Unterschiede der Harnstoffkonzentration im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Dunn´s Method; Signifikanzvorgabe p<0,05)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	ja
Woche 1 vs. Woche 14	nein
Woche 1 vs. Woche 24	nein
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	nein
Woche 2 vs. Woche 24	ja
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	nein
Woche 6 vs. Woche 24	nein
Woche 10 vs. Woche 14	ja
Woche 10 vs. Woche 24	ja
Woche 14 vs. Woche 24	nein

Die Abbildung eines berechneten Konzentrationsverlaufs und zugehöriger Gleichung erschien für den Parameter Harnstoff nicht sinnvoll.

4.2.7 Kreatinin

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Kreatinins im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.7.1 (die Einzelwerte sind der Tabelle 4.2.7.1.A des Tabellenanhangs zu entnehmen) und in den Abbildungen 4.2.7.1 und 4.2.7.2 wiedergegeben. Danach ist bereits während der Milchphase ein tendenzielles Absinken der Kreatininkonzentration im Kälberplasma zu beobachten. Von $88,53 \pm 10,95 \mu\text{mol/l}$ (1. Woche) sinkt der Wert in der Entwöhnungsphase signifikant auf $61,60 \pm 8,18 \mu\text{mol/l}$ (-30 %, 10. Woche). Im weiteren Verlauf der reinen Festfütterernährung kommt es nur noch zu einem geringfügigen weiteren Absinken der Kreatininkonzentration. Generell – wie in Tabelle 4.2.7.2 dargestellt – finden sich in den Wochen 10, 14 und 24 bezogen sowohl auf Woche 1 als auch auf Woche 2 signifikant niedrigere Kreatininkonzentrationen im Kälberplasma.

Tabelle 4.2.7.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Kreatininkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW ($\mu\text{mol/l}$)	88,53	78,40	73,07	61,60	57,93	60,13
SD	10,95	13,83	14,08	8,18	10,72	10,32
VK (%)	12,36	17,64	19,28	13,29	18,50	17,15

Standardabweichung und Variationskoeffizient variieren im Untersuchungszeitraum vergleichsweise wenig. Lediglich mit Beginn der jeweiligen Futterumstellungsphasen (6. bzw. 14. Woche) fallen sie etwas größer aus.

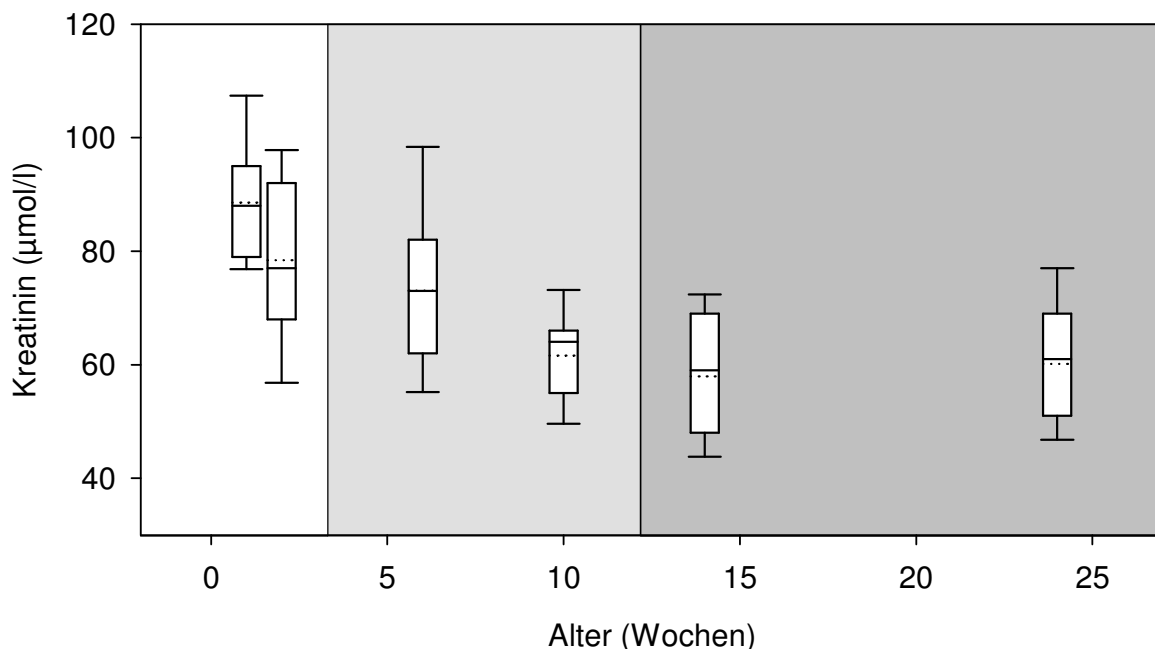


Abb. 4.2.7.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Kreatininkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Von der 1. bis zur 14. Lebenswoche der Kälber ist ein kontinuierliches Absinken der Plasmakreatininkonzentration zu beobachten (siehe Abbildung 4.2.7.1 und Abbildung 4.2.7.2). Die Konzentrationswerte zur Woche 14 und 24 dagegen erreichen ein ähnliches Niveau. Offensichtlich stellt sich während der ausschließlichen Festfutteraufnahme allmählich ein Konzentrationsplateau ein.

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede für das Kreatinin im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die

Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.7.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.7.2: Statistisch signifikante Unterschiede der Kreatininkonzentration im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Tukey Test; Signifikanzvorgabe p<0,05)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	ja
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	ja
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	ja
Woche 2 vs. Woche 14	ja
Woche 2 vs. Woche 24	ja
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	nein
Woche 6 vs. Woche 24	nein
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	nein

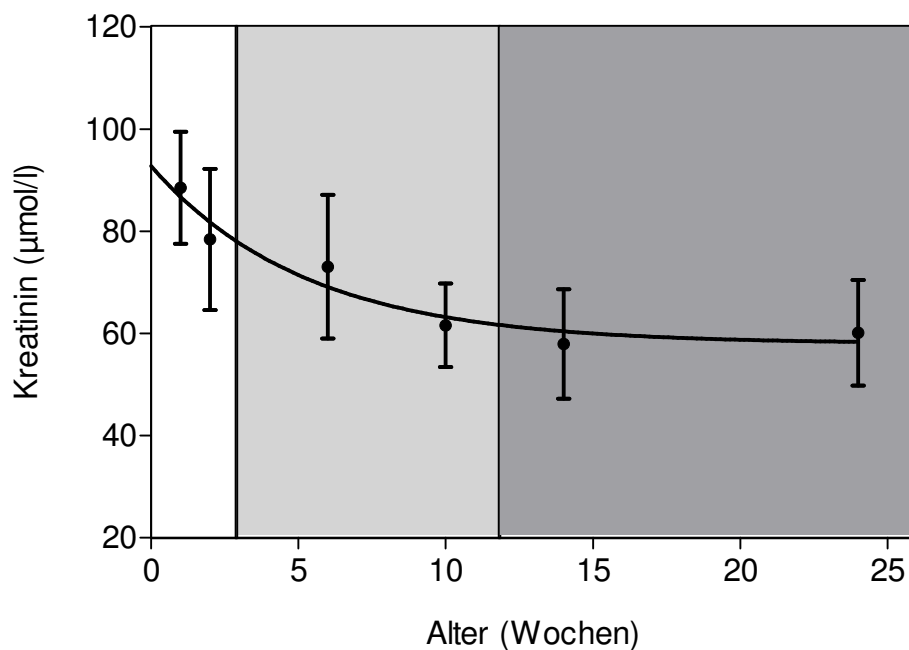


Abb. 4.2.7.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Kreatinin im Blutplasma von Kälbern (n=15; $y=34,81e^{-0,1899 \cdot x} + 57,98$)

4.2.8 Triglyceride

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf der Triglyceride im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.8 und in den Abbildungen 4.2.8.1 und 4.2.8.2 wiedergegeben. Danach bewegt sich die Konzentration der Triglyceride im Blutplasma der Kälber über den gesamten Untersuchungszeitraum im Mittel zwischen 0,23 und 0,29 mmol/l (die Einzelwerte können der Tabelle 4.2.8.1.A des Tabellenanhangs entnommen werden). Es sind dabei keine statistisch signifikanten Konzentrationsunterschiede zu verzeichnen ($p=0,586$).

Tabelle 4.2.8: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Triglyceridkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (mmol/l)	0,25	0,23	0,29	0,29	0,25	0,29
SD	0,17	0,14	0,16	0,11	0,08	0,09
VK(%)	70,50	62,22	55,39	37,49	33,34	31,34

Der Variationskoeffizient ist, wie aus Tabelle 4.2.8 ersichtlich wird, in der Phase der reinen Milchernährung überraschend hoch, nimmt aber dann während des weiteren Beobachtungszeitraumes kontinuierlich ab. In der Phase der ausschließlichen Festfutterernährung, also zwischen Lebenswoche 14 und 24, ist dieser Abfall nur noch gering.

In der Box plot-Darstellung fällt auf, dass die Boxen in der Phase der reinen Festfutterernährung kleiner sind als während der reinen Milch- und der Umstellungsphase. Dies bedeutet, dass die mittleren 50 % der ermittelten Triglyceridkonzentrationen im Kälberplasma sich in einem engeren Bereich bewegen. Offensichtlich bestehen also während der reinen Festfutterphase weniger tierindividuelle Unterschiede.

In Woche 6 liegt der Median mit 0,23 mmol/l deutlich unter dem Mittelwert mit 0,29 mmol/l. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass fast 2/3 der ermittelten Triglyceridwerte niedriger als der Mittelwert sind. Für diesen hohen Mittelwert ist maßgeblich der Maximalwert von 0,69 mmol/l (siehe Tabelle 4.2.8.1.A des Tabellenanhangs), der aber nicht als Ausreißer identifiziert wurde, verantwortlich.

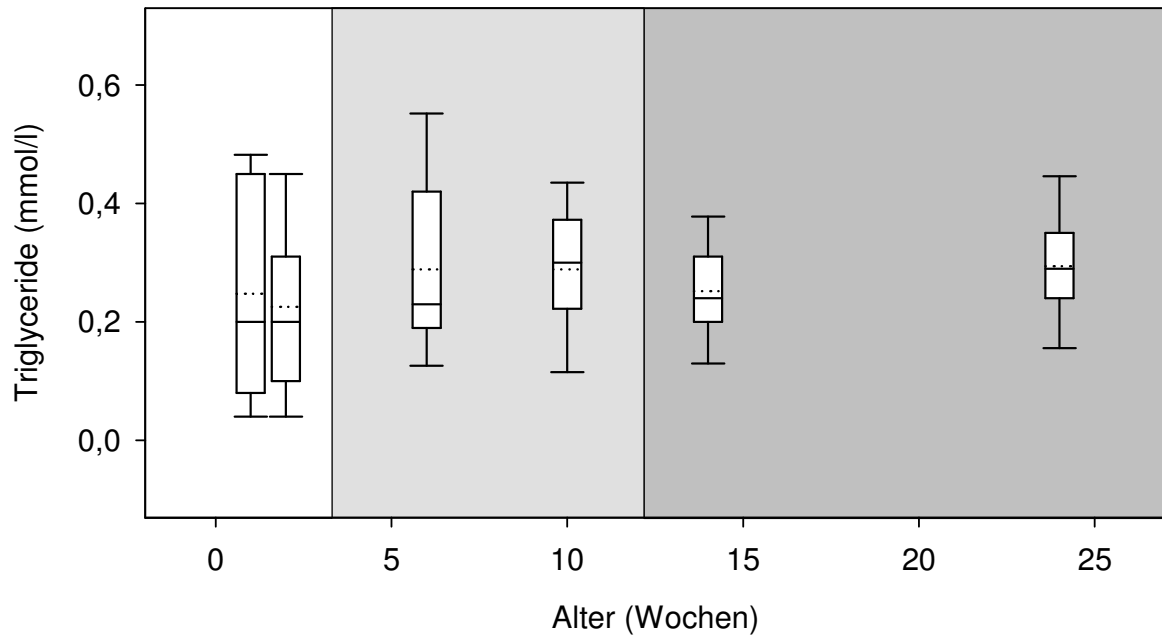


Abb. 4.2.8.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Triglyceridkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Anhand des berechneten Konzentrationsverlaufes (siehe Abbildung 4.2.8.2) kann man erkennen, dass die Mittelwerte um eine Gerade herum zuliegenkommen, die im Verlauf des Beobachtungszeitraumes (1. bis 24. Lebenswoche) nur eine sehr leichte Steigung aufweist.

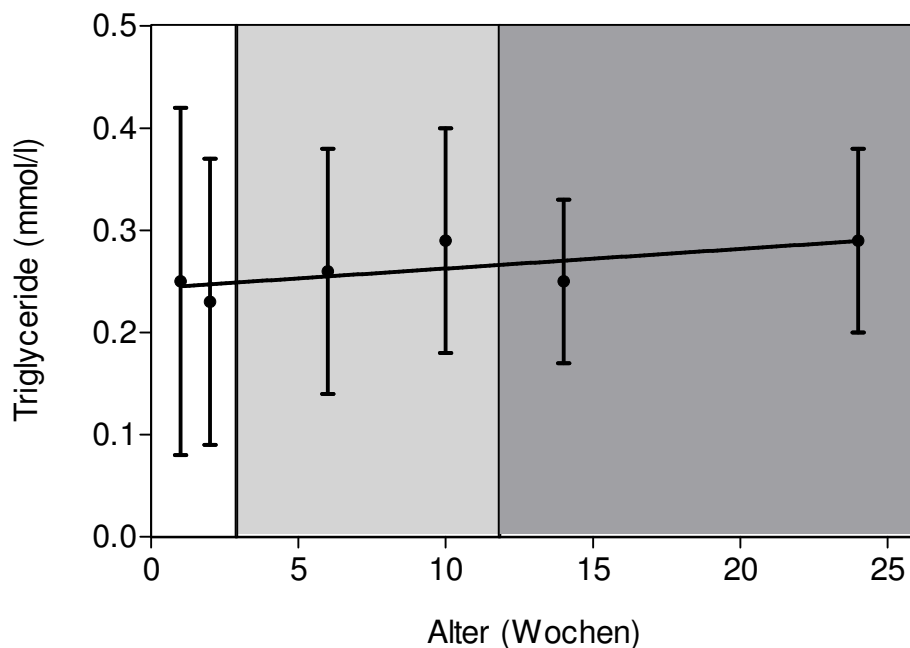


Abb. 4.2.8.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Triglyceriden im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; $y=0,2434+0,001925 \cdot x$)

4.2.9 β -Hydroxybutyrat

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des β -Hydroxybutyrats im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.9.1 (die Einzelwerte können der Tabelle 4.2.9.1.A des Tabellenanhangs entnommen werden) und in den Abbildungen 4.2.9.1 und 4.2.9.2 wiedergegeben. Danach ist in der Milchphase bei nur wenigen Kälbern überhaupt β -Hydroxybutyrat im Blutplasma nachzuweisen. Mittelwert und Standardabweichung liegen hier bei $0,01 \pm 0,03$ mmol/l. Im weiteren Verlauf kommt es allmählich zu einem Konzentrationsanstieg, der nach Beendigung der Entwöhnung (in der 14. Lebenswoche) mit $0,31 \pm 0,13$ mmol/l signifikant ist (die einzelnen Signifikanzen können der Tabelle 4.2.9.2 entnommen werden). Bis zur 24. Woche finden kaum noch Konzentrationsänderungen statt ($0,35 \pm 0,13$ mmol/l). Offensichtlich wird allmählich ein Konzentrationsplateau erreicht.

Tabelle 4.2.9.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige β -Hydroxybutyratkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern ($n=15$)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (mmol/l)	0,01	0,01	0,01	0,09	0,31	0,35
SD	0,03	0,03	0,04	0,05	0,13	0,13
VK (%)	387,30	387,30	263,90	49,04	43,52	37,56

Abbildung 4.2.9.1 macht den Anschein, als würden hier bei den ersten vier Untersuchungszeitpunkten die Boxen „fehlen“. Dies kommt jedoch dadurch zustande, dass in Woche 1, 2 und 6 bei mehr als 50 % der Kälber kein β -Hydroxybutyrat im Blutplasma nachzuweisen war und in Woche 10 bei mehr als 50 % der Kälber eine β -Hydroxybutyratkonzentration von genau 0,1 mmol/l ermittelt wurde.

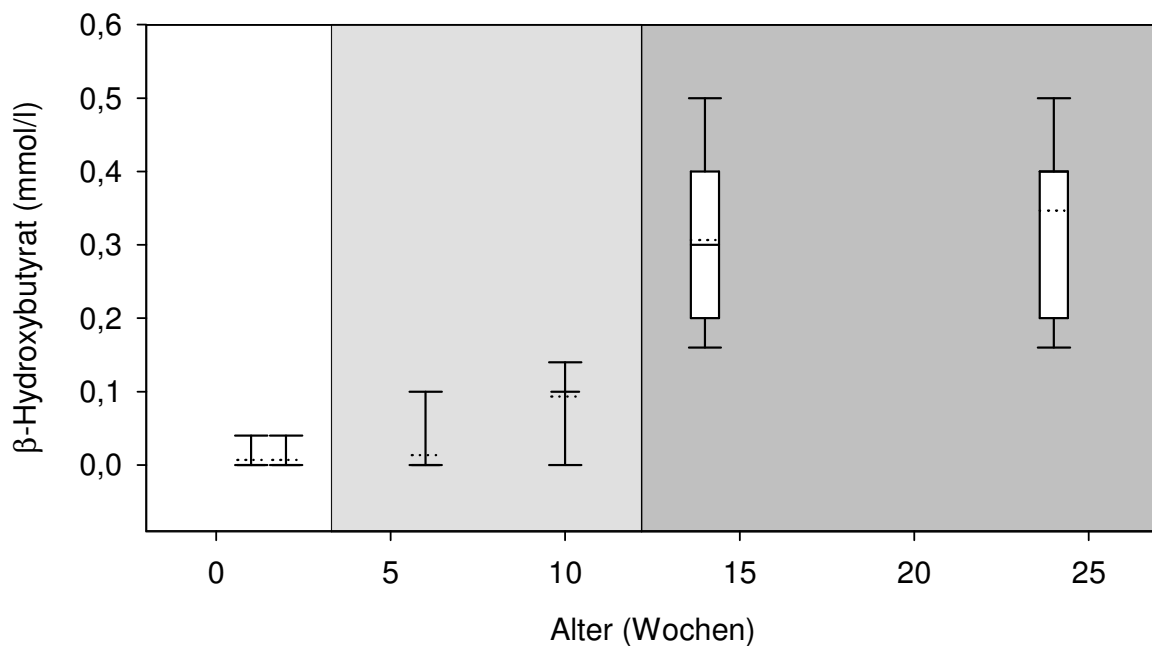


Abb. 4.2.9.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen β -Hydroxybutyratkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede für das β -Hydroxybutyrat im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.9.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.9.2: Statistisch signifikante Unterschiede der β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Tukey Test; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	nein
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	ja
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	ja
Woche 2 vs. Woche 24	ja
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	ja
Woche 6 vs. Woche 24	ja
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	nein

Die in Abbildung 4.2.9.2 berechnete Kurve zeigt einen typischen Sättigungsverlauf, in dem sie sowohl in der Milchphase als auch in der Festfutterphase ein Plateau auf jeweils unterschiedlichem Konzentrationsniveau beschreibt. Die Konzentrationsveränderung vom sehr niedrigen zum deutlich höheren Konzentrationsniveau findet während der Futterumstellungsphase statt, und zwar besonders in dessen Endphase, also mit Beginn der ausschließlichen Festfutteraufnahme.

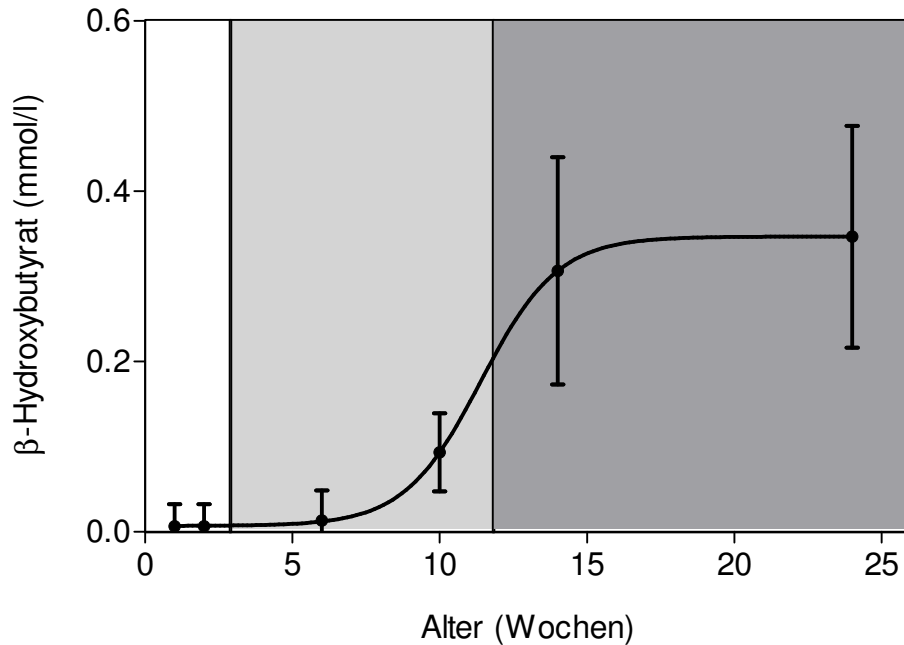


Abb. 4.2.9.2: **Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von β-Hydroxybutyrat** im Blutplasma von Kälbern (n=15; $y=0,006995+0,339805/(1+10^{((11,40-x)*0,3346)})$)

4.2.10 Glucose

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf der Glucose im Kälberplasma ist in Tabelle 4.2.10.1 (die Einzelwerte können der Tabelle 4.2.10.1.A des Tabellenanhangs entnommen werden) und in den Abbildungen 4.2.10.1 und 4.2.10.2 wiedergegeben. Die höchste Glucosekonzentration im Beobachtungszeitraum zeigt sich zur 1. Lebenswoche ($6,30 \pm 0,74$ mmol/l). Danach nimmt die Konzentration allmählich ab und erreicht mit der 10. Woche ($4,91 \pm 0,80$ mmol/l) einen signifikanten Abfall (-22 %). Während die Konzentration bis zur 14. Woche ($4,49 \pm 0,63$ mmol/l) zumindest zahlenmäßig noch weiter abnimmt (-9 %), kommt es anschließend bis zur 24. Lebenswoche ($5,59 \pm 0,46$ mmol/l) wieder zu einem signifikanten Anstieg (um ca. 25 %).

Tabelle 4.2.10.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Glucosekonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (mmol/l)	6,30	5,85	5,24	4,91	4,49	5,59
SD	0,74	1,03	1,06	0,80	0,63	0,46
VK (%)	11,72	17,64	20,20	16,39	14,12	8,24

Sowohl Standardabweichung als auch Variationskoeffizient sind in der Phase der reinen Milchfütterung und während der Entwöhnung besonders hoch, nehmen aber dann, während der ausschließlichen Festfutter-Fütterung, deutlich ab.

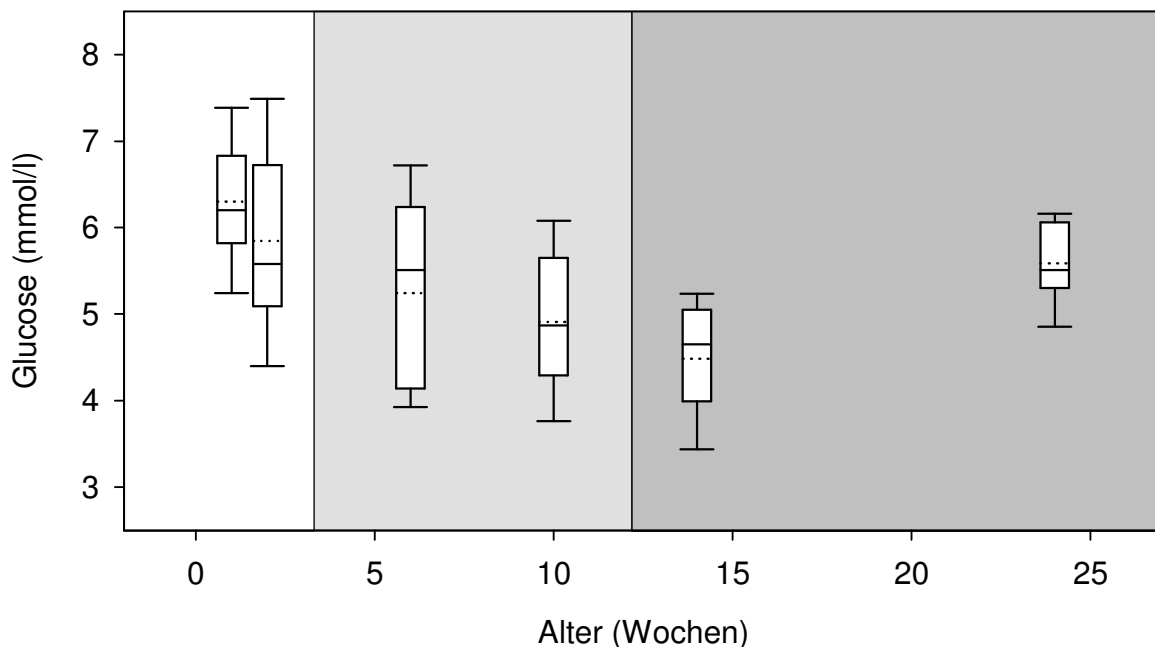


Abb. 4.2.10.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Glucosekonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Auch an der Box plot-Darstellung lässt sich erkennen, dass die gemessenen Einzelwerte während der reinen Milchfütterungsphase zunächst auseinander tendieren. Erkennbar ist dies an der in Woche 2 gegenüber Woche 1 längeren Box und den ebenfalls längeren Whiskern. Ebenso wird durch den Box plot gut sichtbar, dass ab der 6. Woche diese Abstände kleiner werden, um schließlich in Woche 24 auf die geringsten Abstände aller Messzeitpunkte „zusammenzuschrumpfen“.

Die Kruskal-Wallis-Rangvarianzanalyse ergibt signifikante Konzentrationsunterschiede für die Glucose im Kälberplasma ($p < 0,001$). Die Signifikanzen zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten können der Tabelle 4.2.10.2 entnommen werden.

Tab. 4.2.10.2: Statistisch signifikante Unterschiede der Glucosekonzentration im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Dunn´s Method; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	ja
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	nein
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	ja
Woche 2 vs. Woche 24	nein
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	nein
Woche 6 vs. Woche 24	nein
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	ja

Aus der berechneten Kurve des Konzentrationsverlaufes ist von der 1. Woche zur 14. Woche ein sich abschwächender Konzentrationsabfall auf ein Minimum (-28 %) zu beobachten. Hin zur 24. Woche ist wieder ein Anstieg der Glucosekonzentration (um ca. 25 % gegenüber Woche 14) zu beobachten. Gegenüber der ersten Glucosekonzentrationsmessung in Woche 1 ist dieser Wert am Ende der 24. Woche aber immer noch um ca. 11 % geringer.

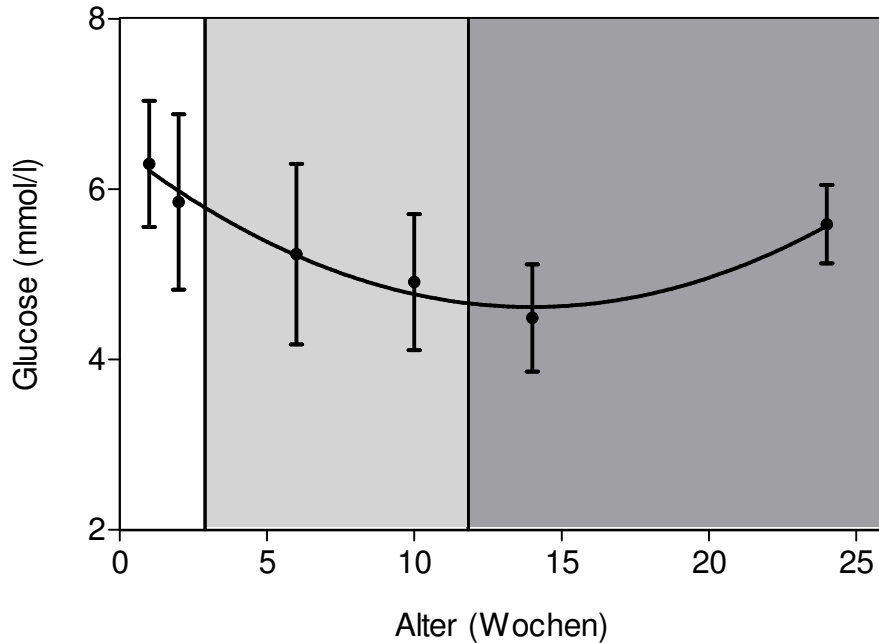


Abb. 4.2.10.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Glucose im Blutplasma von Kälbern (n=15; $y=6,475-0,2658*x+0,009505*x^2$)

4.2.11 Insulin

Der altersabhängige Konzentrationsverlauf des Insulins im Kälberblutplasma ist in Tabelle 4.2.11.1 (die Einzelwerte können der Tabelle 4.2.11.1.A des Tabellenanhangs entnommen werden) und in den Abbildungen 4.2.11.1 und 4.2.11.2 wiedergegeben. Danach kommt es zwischen der 1. und der 14. Lebenswoche zu einem signifikanten Abfall in der Insulinkonzentration und zwar von $46,31 \pm 26,40$ mU/l auf $13,43 \pm 4,13$ mU/l. Zwischen 14. und 24. Woche steigt der Wert wieder signifikant auf $31,43 \pm 17,19$ mU/l an.

Während die Standardabweichung zu 5 der 6 Messzeitpunkte zwischen 17,19 und 34,02 variiert und nur in Woche 14 mit 4,13 überraschenderweise deutlich geringer ausfällt, zeigt der Variationskoeffizient auf hohem Niveau einen stetigen Anstieg zwischen der 1. (57 %) und der 10. (83 %) Lebenswoche. Zur 14. Lebenswoche fällt dieser dann zunächst deutlich ab, und zwar auf ca. 31 %, um anschließend wieder auf ca. 55 % anzusteigen.

Tabelle 4.2.11.1: Mittlere (\pm SD und VK) altersabhängige Insulinkonzentration (mU/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Alter (Wochen)	1	2	6	10	14	24
MW (mU/l)	46,31	32,40	44,11	23,49	13,43	31,43
SD	26,40	21,54	34,02	19,41	4,13	17,19
VK (%)	57,00	66,48	77,13	82,61	30,78	54,69

Aus der Box plot-Darstellung kann man erkennen, dass – mit Ausnahme der Woche 14 – der Mittelwert immer über dem Median liegt. Zusammen mit den Whiskern deutet das auf eine stärkere Abweichung der Insulinkonzentration einiger weniger Probanden nach oben hin, in Woche 6 beispielsweise sogar mit einem gemessenen Maximalwert von 125,85 mU/l (wurde nicht als Ausreißer identifiziert) bei einem Kalb (siehe auch Einzelwerte in Tabelle 4.2.11.1.A). Besonders in den Wochen 6 und 10 wird deutlich, dass sich die Mehrzahl der Messergebnisse im unteren gemessenen Konzentrationsbereich lokalisieren lassen.

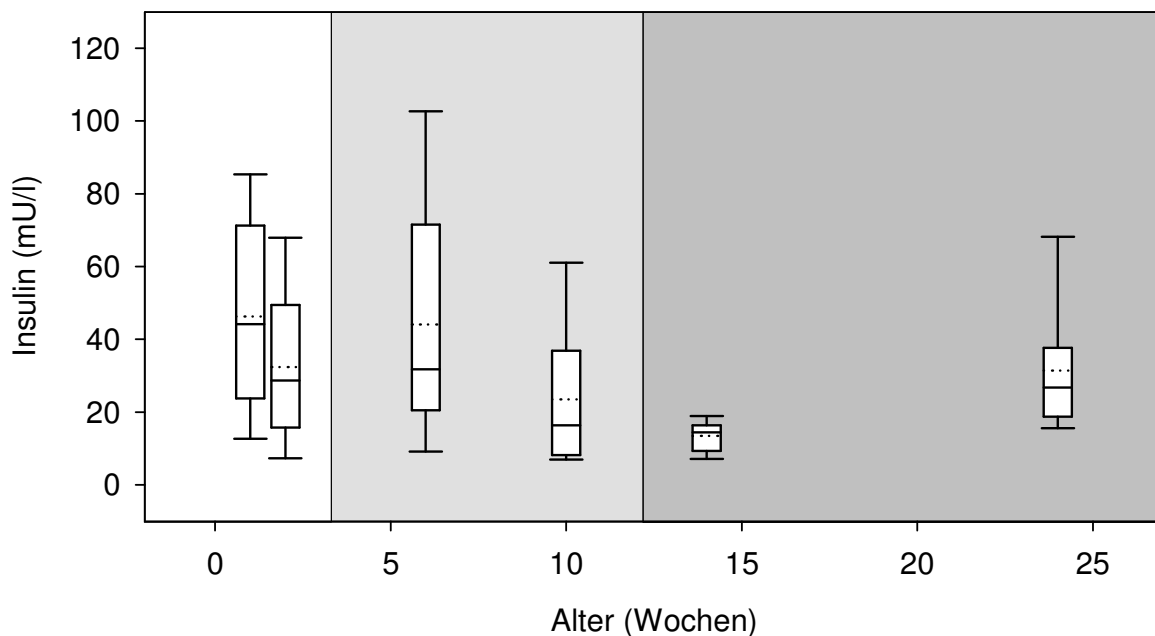


Abb. 4.2.11.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Insulinkonzentration (mU/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Tab. 4.2.11.2: **Statistisch signifikante Unterschiede der Insulinkonzentration** im Blutplasma von Kälbern (n=15; Post Hoc Test: Dunn´s Method; Signifikanzvorgabe $p < 0,05$)

Vergleich der einzelnen Untersuchungszeitpunkte	Signifikanz des Unterschiedes
Woche 1 vs. Woche 2	nein
Woche 1 vs. Woche 6	nein
Woche 1 vs. Woche 10	nein
Woche 1 vs. Woche 14	ja
Woche 1 vs. Woche 24	nein
Woche 2 vs. Woche 6	nein
Woche 2 vs. Woche 10	nein
Woche 2 vs. Woche 14	nein
Woche 2 vs. Woche 24	nein
Woche 6 vs. Woche 10	nein
Woche 6 vs. Woche 14	ja
Woche 6 vs. Woche 24	nein
Woche 10 vs. Woche 14	nein
Woche 10 vs. Woche 24	nein
Woche 14 vs. Woche 24	ja

Der berechnete Konzentrationsverlauf in Abbildung 4.2.11.2 vermittelt einen deutlicheren Eindruck über die Entwicklung des Insulinkonzentrationsverlaufes im gesamten Beobachtungszeitraum. So finden sich initial sinkende Insulinkonzentrationen im Blutplasma der Kälber mit einem Minimum zur 14. Lebenswoche. Zur 24. Lebenswoche steigt die Konzentration dann wieder allmählich an.

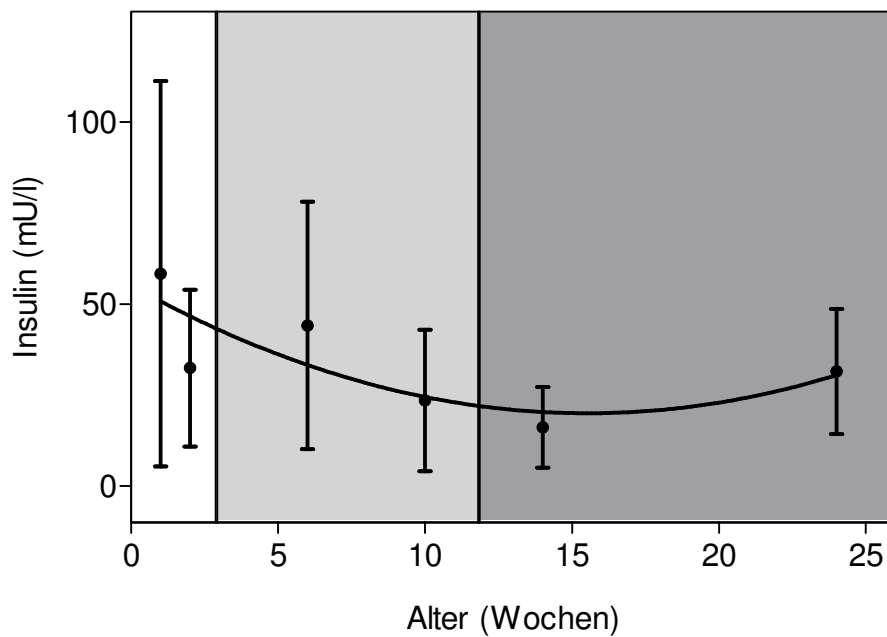


Abb. 4.2.11.2: **Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Insulin** im Blutplasma von Kälbern ($n=15$; $y=55,14-4,529*x+0,1458*x^2$)

4.2.12 Gegenseitige Einflussnahmen der Konzentrationsverläufe von Glucose und Insulin

Legt man, wie in den Abbildungen 4.2.12.1 und 4.2.12.2 geschehen, die Glucose- und die Insulinkonzentrationsverläufe in eine Grafik, so wird eine gewisse Parallelität beider Konzentrationsverläufe über den Untersuchungszeitraum hinweg deutlich. Bei beiden Parametern kommt es zwischen dem Blutentnahmezeitpunkt in der 1. und in der 14. Lebenswoche zu einem Konzentrationsabfall, zum darauffolgenden Zeitpunkt in der 24. Woche zu einem erneuten Anstieg. Es ist naheliegend, dass der Glucosekonzentrationsverlauf für diese Parallelität beim Insulin ursächlich ist.

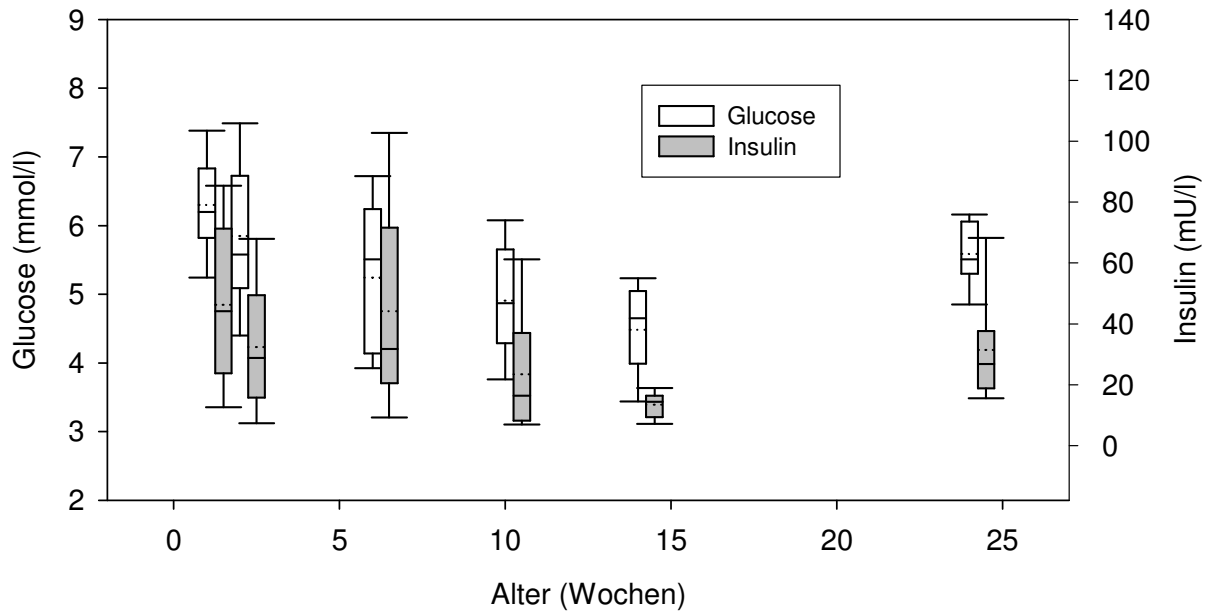


Abb. 4.2.12.1: Box plot-Darstellung der altersabhängigen Glucose- und Insulinkonzentrationen (mmol/l bzw. mU/l) im Blutplasma von Kälbern (n=15)

Bei beiden Parametern konzentrieren sich die mittleren 50 % der Messergebnisse in der Festfutterphase – also in Woche 14 und 24 – in einem engeren Bereich als zu den übrigen Messzeitpunkten, was durch die kleineren Boxen in Abbildung 4.2.12.1 veranschaulicht wird.

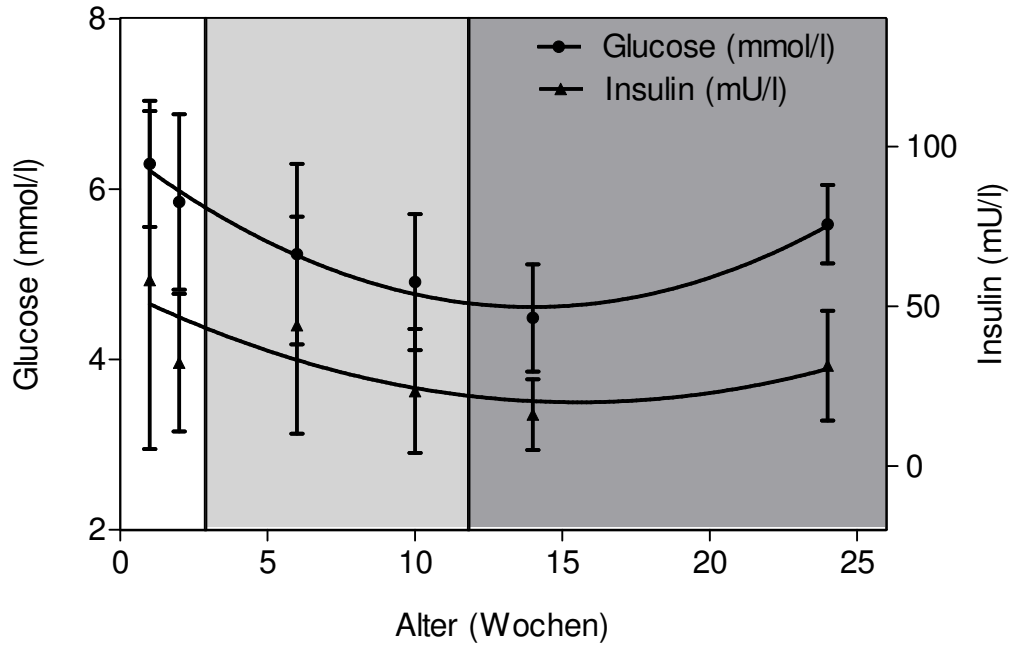


Abb. 4.2.12.2: Berechneter altersabhängiger Konzentrationsverlauf von Glucose und Insulin im Blutplasma von Kälbern (n=15; Glucose: $y=6,475-0,2658*x+0,009505*x^2$; Insulin: $y=55,14-4,529*x+0,1458*x^2$)

5 DISKUSSION

Die von der Fütterung initiiert und auch getragene Entwicklung vom Milchkalb zum adulten Wiederkäuer bringt eine Reihe von strukturellen und funktionellen Veränderungen im Verdauungstrakt mit sich, die sich zwangsläufig auch in der qualitativen und quantitativen Ausprägung von Verdauungsprozessen und deren nachgeordneten Stoffwechselabläufen abzeichnen sollten. In der vorliegenden Untersuchung an Kälbern eines Milchviehbetriebes sollte anhand der Messung des Konzentrationsverlaufes diverser Verdauungs- bzw. Stoffwechselprodukte, einschließlich der Hormone Melatonin und Insulin, im Blutplasma versucht werden, einen Einblick in die Komplexität und Dynamik der fütterungsinduzierten Entwicklung vom funktionellen Monogastrier zum Wiederkäuer zu erhalten. Im Rahmen der nachfolgenden Diskussion sollen die gewonnenen Ergebnisse anhand des vorgegebenen zeitlich strukturierten Fütterungsregimes interpretiert bzw. den grundsätzlich bekannten funktionellen Veränderungen in Verdauungstrakt und intermediärem Stoffwechsel in dieser Entwicklungsperiode zugeordnet werden. D.h., die Einbeziehung von bereits veröffentlichten Erkenntnissen ist hierfür zwingend erforderlich. Im Idealfall könnte es dabei gelingen, die Grundlage zu schaffen, um auch unter Praxisbedingungen mittels weniger zeitlich gestaffelter Blutentnahmen entweder besonders effiziente Entwicklungen oder auch potentielle Fehlentwicklungen in dieser komplexen Umstellungsphase vom monogastrischen zum wiederkäuenden Kalb im Herden-Screening zu erkennen.

5.1 Versuchsbedingungen

Alle bei dieser Untersuchung gewonnenen Blutproben stammten von Kälbern aus dem Lehr- und Versuchsgut der Münchner Tierärztlichen Fakultät in Oberschleißheim. Die Tiere wurden hier wie unter Praxisbedingungen gehalten. Entsprechend wenig beeinflussbar bzw. standardisierbar waren dadurch die Versuchsbedingungen im Beobachtungszeitraum. Das Tiermaterial (z.B. Rasse, Trächtigkeitsverlauf der Muttertiere, Geburtsvorgang, Entwicklungsstatus der Neugeborenen) und die Haltungsbedingungen waren vorgegeben. Allein der mittels des Allgemeinzustandes erkennbare Gesundheitsstatus der Neugeborenen war ein wichtiges Kriterium für die Auswahl der Versuchskälber. Mittels verschiedener

Vorkehrungen und konkreter Maßnahmen konnten zumindest für die jeweilige Beprobungssituation weitgehend einheitliche Bedingungen eingehalten werden. So wurden beispielsweise nur weibliche Tiere ausgewählt und an allen Beprobungstagen die Blutproben um annähernd die gleiche Uhrzeit (9.00 Uhr) genommen. Durch Letzteres sollte wenigstens eine gewisse Standardisierbarkeit der Einflussnahme der letzten, vorangegangenen Nahrungsaufnahme auf die Messparameter erreicht werden. Nicht beeinflussbar war jedoch auch dadurch nicht die Menge der dem Beprobungszeitpunkt vorangegangenen grundsätzlich freiwilligen Futteraufnahme. D.h., da im Kälberstall die Milchaustauscher-Tränke transpondergesteuert ablief, oblag es jedem Kalb individuell, wann und in welcher Menge es seinen Milchaustauscher abrief. Auch die Aufnahme von Heu konnte dadurch, dass es ad libitum zur Verfügung stand, von den Tieren zu ganz unterschiedlichen Zeiten und in unterschiedlichen Mengen aufgenommen werden. Ebenso konnte bei den anderen wiederkäuergerechten Futtermitteln (TMR, Bruchmais und Kälberkorn) nicht von einer komplett standardisierten, gleich umfangreichen Futteraufnahme ausgegangen werden. Die Kälber wurden zwar ca. monatlich entsprechend ihrem momentanen Entwicklungsstand in verschiedene Gruppen aufgeteilt, d.h., Gruppen mit leichteren/kleineren und größeren/schwereren Tieren wurden zusammengefasst (siehe Kapitel 3 Material und Methoden, 3.3 Fütterung und Haltung). Aber auch innerhalb dieser recht kleinen Tiergruppen konnte es deutliche individuelle Unterschiede in der Futteraufnahme geben, beispielsweise weil ein Tier mehr „Appetit“ als andere zeigte. Eine weitere Variable waren die klimatischen Bedingungen. Die Tiere wurden bedingt durch die Geburtenabfolge über einen Zeitraum von acht Monaten – also mit wechselnden Jahreszeiten – beprobt. Da sowohl die Neugeborenen-Einzelglus im Freien standen, als auch der Kälber- und der Jungviehlaufstall nicht klimareguliert waren, war von wechselnden, aber auch individuell variabel tolerierten, Klimaeinflüssen auszugehen. Um dem vermehrten Energieverbrauch der Tiere in der kalten Jahreszeit entgegenzukommen, wurde der Milchaustauscher in den Wintermonaten konzentrierter (140 g/l anstatt 120 g/l) angesetzt (siehe Kapitel 3 Material und Methoden, 3.3 Fütterung und Haltung).

Insgesamt gesehen gab es eine Reihe von Faktoren, die vermutlich die Variabilität der gemittelten Konzentration der erfassten Blutparameter mehr oder minder deutlich beeinflussen konnten. Diese Unwägbarkeiten wären für streng kontrollierte, eher

„lebensfremde“ Situationen ein schwerer Mangel. In der vorliegenden Untersuchung könnten eindeutige entwicklungsspezifische Befunde trotz dieser Feldstudien spezifischen Gegebenheiten für deren Anwendung in der landwirtschaftlichen Praxis besonders wertvoll werden.

Insgesamt gesehen handelt es sich bei den Kälbern des Lehr- und Versuchsgutes der Münchner Tierärztlichen Fakultät um einen tierärztlich gut betreuten, weitgehend gesunden Tierbestand. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes ist nur ein Kalb aufgrund von Krankheitssymptomen ausgeschieden. Die Sektion dieses später, trotz Behandlung, verstorbenen Kalbes ergab eine hochgradige fibrinös-eitrige Entzündung aller serösen Häute mit Nachweis von *Mannheimia haemolytica*. Als primäre Todesursache wurde eine eitrige Bronchopneumonie vermutet.

Die Festlegung der Beprobungszeitpunkte erfolgte anhand des betriebsspezifischen Fütterungsregimes. Während der ersten beiden Lebenswochen wurden die Kälber ausschließlich mit Kolostrum (Tag 1-3) und anschließend ausschließlich mit Milchaustauscher ernährt. Somit spiegelten die Blutentnahmen Ende der 1. und Ende der 2. Lebenswoche die Verdauungs- und Stoffwechselsituation eines funktionell noch monogastrischen Milchkalbes wider. Die Umstellungsphase (von 3. bis 12. Woche) repräsentierend wurden die beiden Beprobungszeitpunkte Ende der 6. und Ende der 10. Lebenswoche gewählt. Mittels der Blutentnahmen an den letzten beiden Untersuchungszeitpunkten Ende der 14. und Ende der 24. Lebenswoche sollte die bereits mehrwöchig etablierte wiederkäuertypische ausschließliche Festfutterernährung dargestellt werden. Die zum Teil gut erkennbare Dynamik im altersabhängig wiedergegebenen Konzentrationsverlauf diverser Blutparameter (siehe Kapitel 4 Ergebnisse) bestätigt die Eignung dieser Zeitpunkte, um die digestive und metabolische Entwicklung des Kalbes vom Monogastrier zum Wiederkäuer anhand ausgewählter Blutparameter darzustellen. Würde man bei gleichbleibendem Untersuchungszeitraum die Anzahl der Beprobungszeitpunkte erhöhen, also die Abstände zwischen den Messzeitpunkten verkürzen – insbesondere während der beiden Umstellungsphasen – so ließe dies vermutlich eine noch präzisere Festlegung zu, ab welchem Zeitpunkt signifikante, für die Fragestellung wichtige und typische Konzentrationsänderungen von Blutparametern stattfinden und wie lange sie anhalten. So lässt sich z.B. aus den

Hippursäureergebnissen dieser Untersuchung ablesen, dass deren Konzentration zwar bereits bis zur 10. Lebenswoche signifikant ansteigt, jedoch scheint eine noch größere Konzentrationszunahme zwischen der 10. und 14. Lebenswoche stattzufinden, also in einem Beobachtungszeitraum, der nicht beprobt wurde (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, Abbildung 4.2.2.1).

Die letzte Beprobung, Ende der 24. Lebenswoche, wurde in einem größeren zeitlichen Abstand (10 Wochen) zum vorletzten Beprobungszeitpunkt gewählt, um zu erkennen, ob bei den bereits ausschließlich wiederkäuergerecht gefütterten Kälbern die altersbedingt deutliche Zunahme der Körpergröße (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, Tabelle 4.1.1) und die damit verbundene größere Futteraufnahme weiteren Einfluss auf die Dynamik der sich durch die Entwöhnung bereits abzeichnende Konzentrationsveränderung von Blutparametern ausübt. Entgegen den Erwartungen haben sich bei den meisten der ausgewählten Blutparameter, mit Ausnahme von Glucose und Insulin, keine signifikanten Konzentrationsänderungen in diesem 10-Wochen-Zeitraum mehr gezeigt. Dies lässt die Vermutung aufkommen, dass die volle Funktionalität des Vormagensystems bei der gegebenen Futterration entweder bereits zur 14. Lebenswoche soweit ausgelastet ist, dass 10 Wochen weitergehendes körperliches Wachstum und der damit verbundenen Größenzunahme des Verdauungstraktes zu keiner wesentlichen Beeinflussung der Konzentration der ausgewählten Blutparameter führt. Oder die weitere kapazitive Auslastung der Vormagenfunktion läuft langsamer ab, sodass innerhalb von 10 weiteren Lebenswochen quantitative Auswirkungen auf einzelne Blutparameter noch nicht signifikant sichtbar werden. Nicht ganz auszuschließen ist auch die Möglichkeit, dass die Blutvolumenzunahme während des 10-wöchigen Wachstums (14. bis 24. Woche) die potentielle Konzentrationszunahme vormagenspezifischer Blutparameter der älteren Kälber mit größerem Futterverzehr partiell kompensiert. Möglicherweise wurde aber auch mit der vormittäglichen, einmaligen Blutentnahme der größere Futterverzehr 24 Wochen alter Kälber und die nachfolgenden digestiven und resorptiven Abläufe im Vormagensystem, die sich zwangsläufig über den ganzen Tag verteilen müssen, nur unzureichend erfasst. Bei wiederkäuergerecht gefütterten Kälbern wäre demnach eine Blutentnahme am späten Nachmittag weitaus aussagekräftiger gewesen, um kapazitive funktionelle Anpassungen des Vormagensystems darstellen zu können. Noch besser wäre es bei Wiederkäuern mit mehr oder minder kontinuierlicher Futteraufnahme die digestiven und resorptiven

Prozesse im Tagesverlauf darzustellen, und zwar mittels über den Tag verteilter mehrmaliger Beprobung.

5.2 Auswahl der Parameter

Als „Indikatoren“ der funktionellen Vormagenentwicklung und damit auch der dadurch induzierten metabolischen Anpassungen wurden in der vorliegenden Untersuchung elf Parameter vorgegeben, und deren altersabhängiger Konzentrationsverlauf im Blutplasma von Kälbern bestimmt: Allantoin, Hippursäure, Pseudouridin, Melatonin, Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Triglyceride, β -Hydroxybutyrat, Glucose und Insulin. Hierin enthalten sind Parameter (z.B. Allantoin), von denen bereits bekannt war, dass unter streng kontrollierten Versuchsbedingungen, deren Konzentration im Blut als Maß für die mikrobielle Nucleinsäureproduktion im Pansen und damit für die mikrobiell getragene digestive Vormagenentwicklung gilt (TOPPS & ELLIOTT 1965; KAPLAN & POBIRSKY 1974; ANTONIEWICZ et al. 1979; GIESECKE et al. 1984; BICKEL-BAUMANN & LANDIS 1986; ROSSKOPF et al. 1991; ARUI 1993; GIESECKE et al. 1994; STANGASSINGER et al. 1995). Von anderen Parametern (z.B. Pseudouridin, Kreatinin) gab es tierexperimentell getragene Hinweise, dass ihre Konzentration im Blut die körperliche Entwicklung eines Tieres widerspiegelt (ARUI 1993; PUCHALA et al. 1993; STEINHARDT & THIELSCHER 2000; KHAN et al. 2007b; KHAN et al. 2007c).

Da aus der Literatur (POEGGELER & HARDELAND 1994; HATTORI et al. 1995; MANCHESTER et al. 1995; BALZER et al. 2000; REITER et al. 2001; KÖHIDAI et al. 2002; HARDELAND & POEGGELER 2003) bekannt ist, dass Melatonin nicht nur in Pflanzenzellen, sondern auch in Mikroorganismen in hoher Konzentration vorkommt, dort jedoch nicht als Hormon, sondern als Antioxidans und Radikalfänger fungiert, sollte in dieser Untersuchung überprüft werden, ob durch die Umstellung auf pflanzliches Futter und die damit einhergehende Ansiedelung von Mikroben im Vormagensystem und deren beider nachfolgende Verdauung eine erhöhte Melatoninkonzentration im Blut nachgewiesen werden kann.

5.3 Informationsgehalt des altersabhängigen Konzentrationsverlaufes der untersuchten Parameter

Das **mittlere Geburtsgewicht** aller untersuchten Kälber – davon 4 Fleckvieh, 4 Schwarzbunte, 2 Murnau-Werdenfelser, 19 Fleckvieh/Schwarzbunte, 1 Fleckvieh/Braunvieh, 1 Fleckvieh/Gelbvieh – betrug in vorliegender Untersuchung $39,31 \pm 3,66$ kg (siehe Tabelle 4.1.1). Laut einer Erhebung von KALM (2003) an 4325 weiblichen Deutsch Holstein Kälbern liegt deren mittleres Geburtsgewicht bei $41,4 \pm 4,6$ kg. QUIGLEY et al. (1991) kamen, ebenfalls bei weiblichen Deutsch Holstein Kälbern (n=16) auf ein mittleres Geburtsgewicht von 41,4 kg. Das Gewicht von neugeborenen Fleckviehkälbern liegt in der Regel etwas höher (EGLI & BLUM 1998). Das in vorliegender Untersuchung ermittelte mittlere Geburtsgewicht entspricht somit weitgehend einem mittleren Geburtsgewicht wie es bereits von anderen Autoren beschrieben wurde.

Die **täglichen Zunahmen** von Kälbern variieren nach Rasse aber ganz maßgeblich auch danach wie ihre Futtermittelgestaltung gestaltet wird. Die Rationskomponenten (Milchaustauscher, Grundfutter, Krafftutter) in vorliegender Untersuchung entsprechen einer für die Ernährung von Aufzuchtkälbern üblichen Rationsgestaltung (KAMPHUES et al. 2004). Demnach erhielten die Kälber in den ersten drei Lebensstagen Kolostrum und wurden dann auf Milchaustauscherfütterung (Warmtränke) umgestellt. Bis zur 5. Lebenswoche stieg die Milchaustauschermenge bis auf 9 l täglich, blieb bis zur 8. Lebenswoche konstant und wurde dann wieder verringert. Der Absetzzeitpunkt entsprach mit dem 90. Lebenstag dem konventionellen Absetzen (ca. 100. Lebenstag). Ab dem Alter von 2 Wochen bekamen die Kälber zusätzlich Heu zur ad libitum Aufnahme. Desweiteren wurde ihnen einmal täglich Milchvieh-TMR und Krafftutter in Form von Bruchmais bzw. Kälberkorn vorgelegt (siehe Kapitel 3 Material und Methoden, 3.3 Fütterung und Haltung). In vorliegender Untersuchung lagen die täglichen Zunahmen innerhalb der ersten 14 Lebenswochen der Kälber bei 660,71 g, in den darauffolgenden zehn Lebenswochen, also zwischen der 15. und der 24. Lebenswoche bei 1052,71 g. Bemerkenswert dabei ist, dass der Variationskoeffizient mit ca. 16 % innerhalb der ersten 14 Lebenswochen der Kälber höher ausfiel als in den Lebenswochen 15-24 mit 11 %. Offensichtlich werden die Körpergewichtszunahmen der Kälbergruppe also

über den Beobachtungszeitraum hinweg einheitlicher. Über den gesamten Untersuchungszeitraum (Geburt bis Ende der 24. Lebenswoche) gesehen haben die Kälber somit 824,03 g/Tag zugenommen; der Variationskoeffizient liegt dabei bei ca. 13 %. Vor allem durch die ad libitum Aufnahme von Milch bzw. Milchaustauscher lassen sich bei jungen Kälbern in den ersten Lebenswochen deutlich höhere Tageszunahmen erzielen. HUGI & BLUM (1997) ermittelten Tageszunahmen von 794 g innerhalb der ersten 18 Lebenswochen. Die Kälber (7 Fleckvieh/Rotbunte, 1 Schwarzbunte, 2 Braunvieh) in ihrer Untersuchung bekamen in den ersten 5 Lebenstagen Kolostrum, anschließend Vollmilch (steigende Milchmenge bis zur 8. Lebenswoche auf 7 l täglich, ab der 9. Lebenswoche sinkende Milchmenge bis zur vollständigen Entwöhnung Ende der 15. Lebenswoche). Zusätzlich wurde ihnen Heu zur ad libitum Aufnahme angeboten und Kälberstarter in einer Menge von 1,5 kg/Kalb/Tag. Ein Grund für deren höhere Zunahmen könnte der in ihrer Untersuchung spätere Absetzzeitpunkt (hier: 90 Tage, dort: 105 Tage) sein. BRICKELL et al. (2009) ermittelten zwischen dem 1. und dem 6. Lebensmonat Zunahmen von 770 g/Tag, wobei die Zunahmen zwischen 230 und 1250 g/Tag variierten. Für ihre Untersuchungen standen ihnen 509 (1. Lebensmonat) bzw. 489 (6. Lebensmonat) Schwarzbunte Kälber von 19 verschiedenen Milchviehbetrieben zur Verfügung. Die Tiere erhielten Milch oder Milchaustauscher entweder als Warmtränke ad libitum (mittlere Aufnahme 14 l/Tag), als Kalttränke ad libitum (mittlere Aufnahme 11 l/Tag) oder auf ein Volumen von 4 l/Tag begrenzt (Warmtränke). Die große Variabilität der Zunahmen in der Untersuchung von BRICKELL et al. (2009) ist, zumindest teilweise, Unterschieden in den Managementpraktiken der verschiedenen Betriebe geschuldet. Allerdings ergeben sich auch innerhalb der Betriebe unterschiedliche Zunahmen. Obwohl die Autoren keine Krankheitsfälle analysieren konnten die in Verbindung mit dem Wachstum standen, so vermuten sie doch Infektionskrankheiten als ursächlich für ein suboptimales Wachstum einiger Kälber.

Entgegen der Erwartung, dass der **Triglyceridspiegel** im Blutplasma im Verlaufe der Umstellung von Milch auf wiederkäuergerechte Nahrung absinken wird, ist er in vorliegender Untersuchung über den gesamten Beobachtungszeitraum unverändert geblieben. Während Kälber sich über Milchaustauscher fettreich ernähren, ist Fett in wiederkäuertypischer Nahrung nur in geringem Umfang enthalten. Beobachtungen

von HUGL & BLUM (1997) haben in ihren Untersuchungen an Aufzuchtälbern (n=10) ein Absinken des Triglyceridspiegels im Kälberplasma (von ca. 0,31 mmol/l auf ca. 0,2 mmol/l) mit der Entwöhnung aufgezeigt, und dies mit der Veränderung in der Futteraufnahme und damit auch in der Fettaufnahme in ursächlichen Zusammenhang gebracht. Die in vorliegender Untersuchung ermittelten mittleren Triglyceridkonzentrationen im Kälberplasma bewegen sich zwischen 0,23 und 0,29 mmol/l. Somit liegen sie zwischen den von HUGL & BLUM (1997) ermittelten Konzentrationen für noch nicht entwöhnte Kälber bzw. bereits abgesetzte Kälber. Allerdings beobachteten andere Autoren (EGLI & BLUM 1998; KNOWLES et al. 2000) auch einen gleichbleibenden Triglyceridspiegel im Kälberplasma, der sich in der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) um die 0,43 mmol/l (n=19) und bei KNOWLES et al. (2000) – wie in vorliegender Untersuchung – zwischen 0,2 und 0,3 mmol/l (n=14) bewegt. Für das gleichbleibende Triglyceridkonzentrationsniveau bei Kälbern der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) könnte die Haltung (Mutterkuhhaltung) eine Rolle gespielt haben. Es kommt dabei nicht, wie in anderen Haltungen, zu einem frühen und abrupten Ende der Milchzufuhr und damit der Fettaufnahme daraus. Auch das höhere Konzentrationsniveau in der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) könnte bedingt sein durch die Mutterkuhhaltung und einer damit einhergehenden höheren Milchaufnahmemenge. KHAN et al. (2007b) haben in ihren Untersuchungen eine Gruppe von männlichen Holstein Kälbern (n=20), die 10 % ihres Körpergewichtes an Milch erhalten haben, einer zweiten Gruppe von männlichen Holstein Kälbern (n=20), die 20 % ihres Körpergewichtes an Milch erhalten haben, gegenübergestellt. Letztere zeigte an allen drei Untersuchungszeitpunkten (10, 20 und 30 Lebenstage) eine signifikant höhere Konzentration an Triglyceriden im Plasma. Bei der 10 %-Gruppe lagen die Konzentrationen bei 0,33 bzw. 0,34 bzw. 0,36 mmol/l; bei der 20 %-Gruppe dagegen bei 0,37 bzw. 0,4 bzw. 0,4 mmol/l.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg kommt es zu einer Abnahme des Variationskoeffizienten beim mittleren Triglyceridgehalt im Blutplasma. Am größten ist diese während der reinen Milch- und der Umstellungsphase. Die hohe Variation (ca. 71 % in der 1. und ca. 62 % in der 2. Lebenswoche) während der Milchphase könnte mit einer unterschiedlich hohen Milchaustauscheraufnahme vor der Blutentnahme zusammenhängen. Hat ein Kalb erst kürzlich eine größere Menge Milchaustauscher aufgenommen, so spiegelt sich das auch in einer höheren

Triglyceridkonzentration im Blutplasma wider. Am Ende des Beobachtungszeitraumes ist der Variationskoeffizient mit ca. 31 % weniger als halb so hoch wie am Anfang (ca. 71 %). Diese „Vereinheitlichung“ der Triglyceridkonzentration im Plasma wiederkäuergerecht gefütterter Kälber wird nicht mehr so stark von der Art bzw. dem Umfang der Nahrungsaufnahme beeinflusst. Wie eingangs bereits erwähnt, ist bei ausschließlich mit festem Futter gefütterten Kälbern bis zum Zeitpunkt der Blutentnahme erst ein offensichtlich einheitlich kleiner Teil der täglichen Futteraufnahme erfolgt. Wenn überhaupt, dann dürfte sich ein wiederkäuertypisches, zu den Milchkälbern niedrigeres, Triglyceridkonzentrationsniveau erst am späten Nachmittag einstellen.

Beim **Gesamtprotein** kommt es während der Umstellungsphase von Milchaustauscher auf festes Futter zu einem signifikanten Anstieg der mittleren Konzentration im Plasma der Kälber. Sowohl in der frühen reinen Milchphase (ca. 56 g/l) als auch in der späteren reinen Festfutterphase (ca. 73 g/l) kommt es hingegen zu keinerlei Veränderung des Konzentrationsniveaus. Es bleibt plateauartig. Auch STEINHARDT & THIELSCHER (2000) beschreiben Zunahmen der Gesamtproteinkonzentration im Blutplasma von Kälbern. So kommt es in ihren Untersuchungen zwischen dem 15. und dem 30. Lebenstag zu einem kaum merklichen Anstieg (+ ca. 2 %), der dann zum 60. Lebenstag (+ ca. 9 %) aber auch noch einmal zum 90. Lebenstag (+ 13 % vom 60. Lebenstag) hin signifikant wird. Als Grund für diesen Anstieg vermuten sie eine vermehrte Proteinsynthese insbesondere in der Leber aber auch in anderen Körpergeweben. Insgesamt bleiben die Gesamtproteinkonzentration im Kälberplasma in der Untersuchung von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) mit 46,7 g/l (15. Lebenstag) bis 57,4 g/l (90. Lebenstag) während des gesamten Beobachtungszeitraumes auf einem niedrigeren Niveau als in vorliegender Untersuchung. Auch in der Untersuchung von HUGL & BLUM (1997) kommt es zu einem signifikanten Anstieg (ca. 16 %) des Gesamtproteins im Kälberplasma während der Entwöhnung. Da in ihren Untersuchungen die gleichzeitig gemessene Albuminkonzentration nur sehr moderat angestiegen ist, vermuten sie einen deutlichen Anstieg der Globuline als ursächlich für die gestiegene Gesamtproteinkonzentration. Mit einer Gesamtproteinkonzentration von ca. 62 g/l in der 4. Lebenswoche weisen die Kälber in der Untersuchung von HUGL & BLUM (1997) anfänglich etwas höhere Werte auf

als in vorliegender Untersuchung (ca. 57 g/l in der 2. Lebenswoche), erreichen aber nach der Entwöhnung (16. Lebenswoche) mit ca. 72 g/l das gleiche Niveau wie in vorliegender Untersuchung (ca. 73 g/l in der 14. Lebenswoche).

Während die Kälber in vorliegender Untersuchung in der reinen Milchphase noch eine niedrigere Konzentration (z.B. 56 g/l) von Gesamtprotein im Plasma aufweisen als er für erwachsene Milchkühe (z.B. 70 g/l) typisch ist, erreicht das Konzentrationsniveau ab dem Alter von 10 Lebenswochen (ca. 65 g/l) den wiederkäuertypischen Normbereich von 60-70 g/l (WEISS & WARDROP 2011).

Denkbar wäre auch, dass die vermehrte Proteinsynthese der wiederkäuergerecht gefütterten Kälber mit einer höheren Verfügbarkeit insbesondere von allen essentiellen Aminosäuren, aus Mikrobenprotein des Pansens stammend, zusammenhängt. Gegen diese Theorie sprechen allerdings Ergebnisse anderer Untersucher, die keinerlei Veränderungen in der Proteinkonzentration bei heranwachsenden Kälbern sehen. Allerdings wäre es für einen derartigen Vergleich notwendig, die einzelnen Futtermittel, insbesondere deren Proteinmenge und Proteinqualität sowie die daraus verfügbaren Aminosäuren, genau zu betrachten. Beispielsweise kommt es in der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) in einer Mutterkuhherde, abgesehen von einem signifikanten Gesamtproteinanstieg am ersten Lebenstag (von ca. 41 g/l auf ca. 56 g/l), zu keinerlei Konzentrationsschwankungen innerhalb des Beobachtungszeitraumes (Geburt bis 84. Lebenstag). Dies könnte mit der auch individuell sehr bedarfsangepassten Ernährungssituation der Kälber zusammenhängen, die relativ lange Kuhmilch ad libitum bekommen und gleichzeitig freien Zugang zum Futter ihrer Muttertiere haben. Auffällig und schwer interpretierbar bleibt, dass der Anstieg der Gesamtproteinkonzentration bei Kälbern der vorliegenden Untersuchung sich ausschließlich während der Umstellung von Milchnahrung auf festes Futter signifikant zeigt.

Melatonin ist bekanntermaßen nicht nur in diversen Pflanzenzellen, sondern auch in verschiedenen Bakterienspezies und Protozoen vorhanden. Wenn es nun im Verlaufe der Vormagenentwicklung zu einer Futterumstellung und gleichzeitig zur Besiedelung des Vormagensystems mit Mikroben kommt, wäre es denkbar, dass durch Verdauung und Resorption die Melatoninkonzentration im Blut wiederkäuergerecht gefütterter Kälber sich erhöht. In vorliegender Untersuchung

kam es jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg zu keiner signifikanten Änderung der Melatoninkonzentration im Kälberplasma. Dennoch lassen sich tendenzielle Änderungen im Melatoninkonzentrationsniveau beobachten: Bereits in der 2. Lebenswoche kommt es zu einer Anhebung der Melatoninkonzentration. Dieses Niveau bleibt in Woche 6 und 10 erhalten um danach wieder tendenziell abzufallen. Auch die Variabilität der Melatoninkonzentration bei den einzelnen Individuen ist in dieser Zeit (Woche 2 bis 6) mit einem Variationskoeffizienten von ca. 173 % bzw. 178 % am größten.

Die Literatur (ERIKSSON et al. 1998; VALTONEN et al. 2003; WÖHR et al. 2004; JOUAN et al. 2006) belegt, dass Melatonin auch in Kuhmilch, insbesondere in der Nachtmilch, enthalten ist. So haben z.B. ERIKSSON et al. (1998) in der Milch von Ayrshire Kühen (n=4) im Mai mittägliche Konzentrationen von 7 ± 2 pg/ml und nächtliche Konzentrationen von 15 ± 1 pg/ml gefunden. Bei einer anderen Gruppe von Kühen (n=6) in einem späteren Laktationsstadium, die im Februar beprobt wurden, lagen die Konzentrationen bei 12 ± 5 pg/ml mittags bzw. 26 ± 7 pg/ml nachts. Da die Kälber in vorliegender Untersuchung während der ersten drei Lebenstage mit Kolostrum versorgt wurden, wäre eine Beeinflussung der Melatoninkonzentration im Kälberplasma für die 1 Woche alten Tiere auf diesem Wege denkbar. Allerdings spricht hier die Untersuchung von WÖHR et al. (2004), die den Einfluss von unterschiedlichen Melatoninkonzentrationen in der Milch auf die Melatoninkonzentration im Kälberplasma untersucht haben, dagegen. Dazu verglichen sie die Melatoninkonzentration im Plasma von Kälbern (n=9), die keine Milch bekommen hatten mit der von Kälbern (n=9) die eine halbe Stunde vor der Blutentnahme Nachtmilch getrunken hatten. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Aus der Literatur (REITER et al. 2001; HARDELAND & POEGGELER 2003; PANDIPERUMAL et al. 2006; PAREDES et al. 2009) geht hervor, dass Melatonin in Pflanzen vorhanden ist, und zwar, bedingt durch viele verschiedene Faktoren wie z.B. Wachstumsbedingungen oder Reifegrad (DUBBELS et al. 1995), in sehr unterschiedlich hohen Konzentrationen. So haben beispielsweise CHEN et al. (2003) den Gehalt von Melatonin in verschiedenen Kräutern der chinesischen Medizin untersucht und haben dabei Konzentrationen zwischen 12 und 3771 ng/g gefunden. Auch in Pflanzen, die als Futter für Wiederkäuer Verwendung finden, wurde bereits Melatonin nachgewiesen, so z.B. in Weizen (TAN et al. 2003; HERNÁNDEZ-RUIZ et

al. 2005), Hafer (HATTORI et al. 1995; HERNÁNDEZ-RUIZ et al. 2005), Gerste (HERNÁNDEZ-RUIZ et al. 2005) oder Mais (HATTORI et al. 1995). Die letztgenannten Futtermittel wurden auch den Kälbern in vorliegender Untersuchung verfüttert (siehe Kapitel 3 Material und Methoden, Tabelle 3.3.2, Tabelle 3.3.3 und Tabelle 3.3.4.). Wie die Bioverfügbarkeit von Melatonin aus Futtermitteln ist, ist unklar (REITER et al. 2001). Allerdings konnten HATTORI et al. (1995) in ihren Untersuchungen bei Hühnern einen erhöhten Blutmelatoninspiegel beobachten nachdem sie den Tieren Pflanzen verfüttert hatten, die reich an Melatonin sind. Generell liegen die in dieser Untersuchung ermittelten Melatoninkonzentrationen erheblich höher als von anderen Autoren beschrieben. STANISIEWSKI (1988) und VALTONEN (2003) fanden in ihren Untersuchungen vormittägliche Werte bei Kälbern von ca. 7 pg/ml. In vorliegender Untersuchung hingegen lagen die niedrigsten Konzentrationen in Lebenswoche 1 bei 0,05 µg/l (=50 pg/ml) und die höchsten in Woche 6 bei 0,18 µg/l (=180 pg/ml). Der höchste gemessene Einzelwert (Woche 6) lag sogar bei 1,23 µg/l (=1230 pg/ml).

Insgesamt ist die Variabilität der Melatoninkonzentration bei den Kälbern einer Altersklasse bzw. Fütterungsgruppe in der vorliegenden Untersuchung sehr hoch (VK zwischen 106 und 178%). Möglicherweise ist es für den Erhalt einer einheitlicheren behandlingstypischen mittleren Konzentration von Melatonin besser, die Blutproben um die Mittagszeit herum mit vergleichsweise hoher Lichtintensität zu nehmen, um so eine bessere, möglichst identische Ausgangssituation für alle Versuchstiere zu schaffen. Da sich die Probennahmen bei längerfristigen altersabhängigen wie der vorliegenden oftmals über Sommer, Herbst und Winter erstrecken, wäre mit einer festen mittäglichen Uhrzeit für die Beprobung eine gewisse Grundstabilität für die Melatoninkonzentration gegeben, sodass der Einfluss eines Futterwechsels hin zur exogenen Melatoninzufuhr besser darstellbar würde. Was dennoch bestehen bliebe, wären je nach Jahreszeit große zeitliche Unterschiede zwischen Sonnenaufgang und Probenahmezeitpunkt. Dadurch könnten, wie in der vorliegenden Untersuchung, auch Unterschiede in der endogenen Melatoninproduktion zustande gekommen sein, die dann auch den Variationskoeffizienten eines Mittelwertes deutlich beeinflussen.

Frühere Untersuchungen (z.B. KAPLAN & POBIRSKY 1974; ARUI 1993; STANGASSINGER et al. 1995) haben ergeben, dass von der

Allantoinkonzentration im Blutplasma auf die mikrobielle Aktivität im Pansen geschlossen werden kann. Werden Purinbasen nicht über ein Recycling, den Salvage-Pathway, wiederverwertet, sondern abgebaut, so entsteht über einige Zwischenschritte das End- und Ausscheidungsprodukt Allantoin. Obwohl eine Abgabe von Allantoin über die Milch (TIEMEYER et al. 1984) und mit dem Speichel (FUNABA et al. 1995) nachgewiesen ist, wird Allantoin hauptsächlich über den Harn ausgeschieden. Die anteiligen Mengen an der Gesamtallantoinausscheidung in der Milch von Kühen ist mit 0,6-2,4 % (GIESECKE et al. 1994), abhängig von der Höhe der Milchleistung (STANGASSINGER et al. 1995), und im Speichel von Schafen mit <1 % (KAHN & NOLAN 2000) sehr gering. Das im Blut zirkulierende Allantoin stammt aus dem Abbau von endogenen Purinbasen und von Purinbasen, die aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT) resorbiert wurden. Die Nucleinsäuren im GIT des Wiederkäuers, die durch Enzyme des Pankreassekrets und der Bürstensaummembran zu Nucleosiden, Purin- und Pyrimidinbasen, Pentosen und Ribose-1-Phosphat verdaut und anschließend im Dünndarm resorbiert (WOLFFFRAM & SCHARRER 2010) werden, sind von verschiedener Herkunft. Sie können aus der Nahrung, aus Sekreten und abgeschilferten Mucosazellen des Wiederkäuers oder aus der Mikroflora des Vormagensystems stammen (MCDONALD & WARNER 1974). Die aus der Nahrung stammenden Nucleinsäuren und deren Derivate werden rasch, bereits im Pansen, abgebaut und tragen nicht zu der großen Menge an Nucleinsäuren bei, die mit dem Chymus den Dünndarm erreichen (SMITH & MCALLAN 1970; MCALLAN 1982). Der Anteil an Nucleinsäuren, der aus Sekreten und abgeschilferten Mucosazellen des Wiederkäuers stammt, ist sehr gering (MCALLAN 1982). Den größten Teil der im Dünndarm ankommenden Nucleinsäuren enthalten die Mikroorganismen aus dem Pansen, die durch den mehr oder minder kontinuierlichen Fluss der Ingesta transportiert werden (ARUI 1993).

Obwohl Rinder und Schafe in ihrem Energie- und Proteinmetabolismus generell als gleichartig betrachtet werden, existieren im Purinmetabolismus doch bemerkenswerte Unterschiede (STANGASSINGER et al. 1995). So weisen Rinder eine vergleichsweise höhere renale Ausscheidung von endogenen Purinen auf als Schafe. CHEN et al. (1990) vermuten als ursächlich hierfür eine höhere Abbaurate von Purinen. Das Schlüsselenzym für den Purinabbau ist die Xanthinoxidase, die die Umwandlung von Hypoxanthin zu Xanthin und weiter zu Harnsäure katalysiert und damit ein Recycling des Hypoxanthins verhindert. Diese Xanthinoxidase zeigt in

verschiedenen Geweben (z.B. Intestinum, Blutserum) beim Rind eine signifikant höhere Aktivität als beim Schaf (AL-KHALIDI & CHAGLIASSIAN 1965; CHEN et al. 1990; STANGASSINGER et al. 1995). Aus dieser hohen Aktivität der Xanthinoxidase im Intestinum des Rindes kann geschlossen werden, dass die exogenen Purine während der Resorption komplett abgebaut werden und so dem Gewebe nicht mehr für eine Wiederverwertung zur Verfügung stehen (CHEN & ORSKOV 2003).

Bereits TOPPS & ELLIOT (1965) haben durch Untersuchungen an Schafen herausgefunden, dass ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration von Nucleinsäuren im Pansen und der Menge an Purinderivaten (Harnsäure und Allantoin), die über den Harn ausgeschieden werden, besteht. Über die renale Ausscheidung von Purinen und Purinmetaboliten lässt sich, aufgrund des hohen und relativ konstanten Anteils von Nucleinsäuren an der mikrobiellen Masse, die mikrobielle Proteinbiosynthese im Pansen schätzen (GIESECKE et al. 1984; BICKEL-BAUMANN & LANDIS 1986; STANGASSINGER et al. 1995). Die mikrobielle Proteinbiosynthese wird bei ausreichender Stickstoff-Versorgung (durch exogene Quellen und endogene Sekretionsprozesse) maßgeblich von der Aufnahme an verdaulicher Energie bestimmt (BREVES & LEONARD-MAREK 2010). So war die Allantoinkonzentration im Plasma von laktierenden Kühen mit der Aufnahme von Energie signifikant erhöht (ROSSKOPF et al. 1991). Auch KAPLAN & POBIRSKY (1974) beschreiben einen Zusammenhang zwischen der Allantoinkonzentration im Wiederkäuerplasma und dem Level an Nucleinsäuren im Pansen. Die gastrointestinale Infusion von Purinbasen bei Stieren geht in den Untersuchungen von MCALLAN (1980) einher mit einem erhöhten Purinlevel im Plasma. All diese Untersuchungen belegen die Zusammenhänge zwischen mikrobieller Masse, dem Allantoingehalt im Plasma und der renalen Exkretion. Die Allantoinkonzentration im Plasma ist hauptsächlich abhängig von der Menge an mikrobiellen Purinen, die im Pansen in Relation zur Aufnahme an verdaulicher Energie gebildet werden. Die renale und mammäre Ausscheidung wird wiederum v.a. über die Allantoinkonzentration im Plasma geregelt (STANGASSINGER et al. 1995). Allerdings werden beim Umsatz endogener Nucleinsäuren ebenfalls Purine freigesetzt, metabolisiert und auch wiederverwendet, sodass die Blutspiegel von Allantoin nicht allein nur exogene Purinzufüsse aus dem Pansen widerspiegeln (STANGASSINGER 2003). Mit fortschreitender struktureller und funktioneller Entwicklung des Vormagensystems z.B. bei jungen Kälbern steigt insbesondere die

Anzahl der insbesondere im Pansen ansässigen Mikroben, die dann mit dem Pansenchymus distalere Abschnitte des Verdauungstraktes erreichen und dort verdaut werden. Somit sollte eine Beurteilung des Plasmaallantoin beim heranwachsenden Wiederkäuer eine Abschätzung des Entwicklungsstadiums des Vormagensystems zulassen (ARUI 1993).

ARUI (1993) hat das Plasma-Allantoin in einer standardisierten und kontrollierten Untersuchung bei heranwachsenden Lämmern während der reinen Milch- bzw. Milchaustauscherfütterung, der Umstellungsphase und der reinen Festfutterphase gemessen und dabei zwischen einer früh (45. Lebenstag) und einer spät (101. Lebenstag) entwöhnten Gruppe unterschieden. Während der Umstellungsphase (mit 75,79 $\mu\text{mol/l}$ bei der früh entwöhnten bzw. mit 53,34 $\mu\text{mol/l}$ bei der spät entwöhnten Gruppe) lässt sich, ausgehend von der reinen Milch- bzw. Milchaustauscherphase (mit 48,68 $\mu\text{mol/l}$ bzw. mit 42,41 $\mu\text{mol/l}$), tendenziell eine Zunahme des Allantoin im Blutplasma verzeichnen. In der Festfutterphase erreichte dieser Anstieg mit 107,14 $\mu\text{mol/l}$ bzw. mit 158,78 $\mu\text{mol/l}$ ein signifikant erhöhtes Niveau. Dieser, mit der Futterumstellung einhergehende, Allantoinkonzentrationsanstieg konnte in vorliegender Untersuchung nicht bestätigt werden. Ausgehend von 282,68 $\mu\text{mol/l}$ in der 1. Lebenswoche sinkt die Allantoinkonzentration der Kälber in vorliegender Untersuchung bis zur 10. Lebenswoche signifikant auf 171,46 $\mu\text{mol/l}$ um im weiteren Beobachtungszeitraum nur tendenziell wieder anzusteigen (24. Lebenswoche: 208,4 $\mu\text{mol/l}$). Auch zeigen die Lämmer in der Untersuchung von ARUI (1993) über den gesamten Untersuchungszeitraum (20. bis 104. Lebenstag) hinweg niedrigere Allantoin Spiegel im Plasma als die Kälber in vorliegender Untersuchung.

Die Möglichkeit, der Milchaustauscher könnte für diese anfänglich hohen Allantoinkonzentrationen und den darauffolgenden Abfall in den ersten 10 Lebenswochen verantwortlich sein, wurde überprüft: Der Milchaustauscher wurde aufbereitet und mithilfe der HPLC auf dessen Gehalt an Allantoin untersucht. Die Befunde sprechen jedoch nicht für diese Vermutung einer exogenen Allantoinzufuhr. Es konnten nur geringe Konzentrationen (47,01 $\mu\text{mol/l}$) Allantoin im Milchaustauscher nachgewiesen werden. TIEMEYER et al. (1984) haben z.B. in Kuhmilch Allantoingehalte von 205 $\mu\text{mol/l}$ gefunden.

Die berechneten Mittelwerte der Allantoinkonzentration verzeichnen bereits zur 2. Lebenswoche hin zahlenmäßig einen recht deutlichen Abfall (siehe Tabelle 4.2.1 und Abbildung 4.2.1), welcher jedoch statistisch als nicht signifikant gewertet werden

kann. Für die 1-2 Wochen nach der Geburt vergleichsweise hohe Allantoinkonzentration im Kälberplasma drängt sich die Vermutung auf, dass sie von einem hohen endogenen Nucleinsäurenabbau stammen könnte, der mit nachgeburtlichem Stress und/oder mit dem startenden Gewebeumbau in ursächlichem Zusammenhang stehen könnte. Finden gewebliche Umbauvorgänge statt, so gehen dabei auch reichlich Zellen zugrunde und es fallen viele Nucleinsäuren an, die endogen auch abgebaut werden und so den Allantoin Spiegel im Blut anheben können. Der signifikante Pseudouridinkonzentrationsabfall zwischen der 1. und 2. Lebenswoche (siehe Tabelle 4.2.3.1 und Abbildung 4.2.3.1.), könnte diese Annahme untermauern: Meistens befinden sich Kälber post partum vorübergehend in einem katabolen Stoffwechsellzustand, erkennbar am Gewichtsverlust während der ersten Lebenstage. Ähnliche Überlegungen wurden von ROSSKOPF et al. (1991) angestellt, und zwar dahingehend, dass sogar bei adulten Tieren (hier: Zwergziegen) ein Hungerzustand einen vermehrten Abbau von endogenen Nucleinsäuren verursachen könnte, der den Allantoin Spiegel im Blut anheben würde.

Eine mögliche Erklärung für die unerwartet erniedrigte Allantoinkonzentration im Blutplasma innerhalb der ersten 10 Lebenswochen ist eine hohe endogene Nucleinsäuresyntheserate und dabei der Einbau (statt dem Abbau) von Nucleinsäure-Verdauungsprodukten (z.B. Purinbasen) aus der während der Entwöhnung beginnenden mikrobiellen Besiedelung im Pansen. Dadurch würden analog zum endogenen Purinbasen-Recycling weniger resorbierte Purine im Abbau zum Allantoin landen.

Was den altersabhängigen Verlauf der Harnstoffkonzentration im Blutplasma der Kälber betrifft, so fällt auf, dass ähnlich zum Allantoin diese innerhalb der ersten 10 Lebenswochen signifikant abfällt. Eine weitere Parallele ist der auch beim Harnstoff gegebene besonders starke Konzentrationsabfall zwischen 1. und 2. Lebenswoche, der statistisch gesehen ebenfalls nicht signifikant ist (siehe auch spätere Erläuterungen zum hier vergleichsweise herangezogenen Harnstoff-Konzentrationsverlauf).

Verfolgt man die Allantoinkonzentration im Blutplasma zwischen der 10. und der 14. Lebenswoche, so lässt sich in vorliegender Untersuchung wieder ein tendenzieller Anstieg verzeichnen. Dieser Anstieg könnte durch das im Rahmen der Entwöhnung von der Milch steigende mikrobielle Wachstum im Pansen bedingt sein. In jedem Fall

kann die von FUNABA et al. (1995) beobachtete Konzentrationsabnahme (von 324 $\mu\text{mol/l}$ 1 Woche nach der Entwöhnung bis auf 167 $\mu\text{mol/l}$ 19 Wochen nach der Entwöhnung) im Blutplasma von Kälbern ($n=12$) ab dem Zeitpunkt der Entwöhnung (5. Lebenswoche) nicht bestätigt werden. Zwischen der 14. und der 24. Lebenswoche (Entwöhnung Ende der 12. Lebenswoche) ergaben sich in vorliegender Untersuchung keine Unterschiede in der Allantoinkonzentration im Kälberplasma (210 bzw. 208 $\mu\text{mol/l}$). Lediglich das Allantoin-Konzentrationsniveau von 208 $\mu\text{mol/l}$ (11 Wochen nach der Entwöhnung bei FUNABA et al. (1995) bzw. 12 Wochen nach der Entwöhnung in vorliegender Untersuchung) ist das Gleiche.

Die in dieser Untersuchung ermittelte Allantoinkonzentration von 24 Wochen alten Kälbern, also Tieren, die nach der 12. Lebenswoche ausschließlich mit Festfutter wiederkäuergerecht gefüttert wurden, liegt mit 208,40 $\mu\text{mol/l}$ zwischen den Konzentrationen von ausgewachsenen Ochsen ($n=5$) ($140,97 \pm 31,74$ $\mu\text{mol/l}$) (BALSLIEMKE 1992) und laktierenden Milchkühen ($n=18$) (370,6 $\mu\text{mol/l}$) (ROSSKOPF et al. 1991). Wie oben bereits beschrieben, wird die Allantoinkonzentration im Blutplasma hauptsächlich durch den Gehalt an Nucleinsäuren im Pansen bestimmt. Das mikrobielle Wachstum im Pansen wiederum ist ganz maßgeblich von der Futtermenge/kg Körpergewicht abhängig. Dabei spielen neben der Futtermenge auch andere Faktoren, wie der Energiegehalt des Futters oder der Gehalt an verfügbarem Stickstoff, eine wesentliche Rolle (CHURCH 1969; HARRISON & MCALLAN 1980; DIRKSEN 1981; KAMPHUES et al. 2004; BREVES & LEONARD-MAREK 2010). Aufgrund der Tatsache, dass die Ochsen in der Untersuchung von BALSLIEMKE (1992) nach Erhaltungsbedarf und die Milchkühe in der Untersuchung von ROSSKOPF et al. (1991) nach Milchleistung gefüttert wurden, ist eine unterschiedlich hohe Allantoinkonzentration im Plasma nicht verwunderlich.

Wie bereits erwähnt, fällt die **Pseudouridinkonzentration** im Kälberplasma bereits während der ersten beiden Lebenswochen (Milchphase) signifikant ab. Zwischen der 2. und der 6. Lebenswoche kommt es nur noch tendenziell zu einem weiteren Konzentrationsabfall. Danach, bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes, bleibt die Pseudouridinkonzentration plateauartig annähernd konstant. Ein Einfluss der Futterumstellung ist somit nicht zu erkennen.

Die seltene Base Pseudouridin (5-Ribosyluracil) ist Bestandteil aller tRNAs und rRNAs und der meisten snRNAs sowie snoRNAs (CHARETTE & GRAY 2000). Hier stellt sie Bereiche der Enzymerkennung dar und ist somit in starkem Maße für die Proteinbiosynthese verantwortlich (ARUI 1993). Werden diese RNAs abgebaut, entsteht als Endprodukt u.a. Pseudouridin (SANDER et al. 1986). Dieses wird nicht wiederverwertet (SCHÖCH et al. 1982), sondern über den Harn ausgeschieden (COLONNA et al. 1983; SANDER et al. 1986). Somit lässt sich durch die Pseudouridinkonzentration im Blutplasma auf den endogenen RNA-Umsatz schließen, wodurch eine Beurteilung anaboler und kataboler Zustände ermöglicht wird (ARUI 1993; PUCHALA et al. 1993). Untersuchungen an Ratten und Menschen haben ergeben, dass Pseudouridin vermehrt im Urin von Tumorpatienten zu finden ist (COLONNA et al. 1983; AMURO et al. 1988). Als ursächlich wird ein höherer RNA-Umsatz im Tumorgewebe als im gesunden Gewebe vermutet. PUCHALA et al. (1991) haben Pseudouridin als Marker für den endogenen Nucleinsäurekatabolismus bei Wiederkäuern vorgeschlagen. In ihren Untersuchungen bei auf Erhaltungsbedarf gefütterten Schafen zeigte sich keine Änderung der Pseudouridinkonzentration im Urin. Wurden die Schafe unterhalb des Erhaltungsbedarfs gefüttert, so kam es zu einer Reduzierung der Pseudouridinkonzentration im Urin. ARUI (1993) hat die Pseudouridinkonzentration im Blutplasma in einer standardisierten und kontrollierten Untersuchung bei heranwachsenden Lämmern während der reinen Milch- bzw. Milchaustauscherfütterung, der Umstellungsphase und der reinen Festfutterphase gemessen und dabei zwischen einer früh (45. Lebenstag) und einer spät (101. Lebenstag) entwöhnten Gruppe unterschieden. Bei der früh entwöhnten Gruppe (n=8) fiel die Pseudouridinkonzentration im Plasma von anfänglich 9,4 µmol/l um 33 % auf 7,06 µmol/l. Bei der spät entwöhnten Gruppe (zwischen n=2 und n=8) variierte die Pseudouridinkonzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg (17 Tage vor bis 55 Tage nach der Umstellung) zwischen 4,2 µmol/l und 6,36 µmol/l. Ein Einfluss der Futterumstellung (von Milch bzw. Milchaustauscher auf festes Futter) ließ sich nicht erkennen. Diese Beobachtung deckt sich mit vorliegender Untersuchung. ARUI (1993) hat daraus geschlossen, dass Pseudouridin aus endogener Herkunft stammt. Allerdings hat sich eine negative Korrelation zwischen der Pseudouridinkonzentration im Blut und dem zunehmenden Körpergewicht ergeben ($y = -0,08 \cdot x + 8,09$; $r = -0,53$; $p < 0,001$; $n = 59$). Die jüngere, frühentwöhnte Lämmergruppe (Tag 56, 7,06 µmol/l) zeigt insgesamt höhere

Pseudouridinkonzentrationen im Plasma als die spätentwöhnten Tiere (Tag 128, 4,20 $\mu\text{mol/l}$). ARUI (1993) vermutet einen erhöhten Nucleinsäureumsatz während des körperlichen Wachstums als ursächlich.

Nicht nur passend zu den hohen Allantoinkonzentrationen nach der 1. Lebenswoche in vorliegender Untersuchung könnte auch für das initial hohe Pseudouridinkonzentrationsniveau ($6,93 \pm 2,52 \mu\text{mol/l}$ Ende der 1. Lebenswoche) ein postnataler Gewebeab- bzw. umbau mit einem vermehrten endogenen Nucleinsäurenabbau ursächlich sein. Pseudouridin würde hierbei als Endprodukt bei einem Abbau von endogenen RNAs entstehen (siehe oben).

Vergleicht man die mittlere Pseudouridinkonzentration im Blutplasma von 24 Wochen alten Kälber, die bei $2,69 \pm 0,67 \mu\text{mol/l}$ liegt, mit bereits publizierten wiederkäuerspezifischen Werten, so sind sie deutlich niedriger als die von ROSSKOPF et al. (1991) bei Milchkühen ($n=18$) ermittelten Werte von $6,01 \pm 1,58 \mu\text{mol/l}$. Auch die von ARUI (1993) ermittelten Plasmakonzentrationen von Pseudouridin bei ausgewachsenen Ochsen ($n=5$) ($5,03 \pm 1,5 \mu\text{mol/l}$) werden nicht erreicht. Möglicherweise ist tatsächlich der Stoffwechsellzustand entscheidend für die Höhe des Pseudouridinspiegels im Blutplasma. Vergleicht man die Kälber in vorliegender Untersuchung mit den Milchkühen in der Untersuchung von ROSSKOPF et al. (1991) und mit den Ochsen in der Untersuchung von ARUI (1993) so waren die Kälber eindeutig wachsend (anabol), die Ochsen dagegen waren ausgewachsen und erhaltungsbedarfsorientiert gefüttert (nicht anabol). Die Milchkühe wurden zwar leistungsbezogen (anabol) gefüttert, aber zumindest in den ersten Laktationswochen war ihr Stoffwechsel trotzdem sicherlich katabol (Reserven mobilisierend).

Bezüglich der **Harnstoffkonzentration** im Blutplasma von heranwachsenden Kälbern besteht weder hinsichtlich des altersabhängigen Konzentrationsverlaufs noch hinsichtlich dessen Interpretation Einheitlichkeit in der bestehenden Literatur. Die empirischen Ergebnisse dieser Arbeit decken sich annähernd mit denen von HUGI & BLUM (1997) und von LOHAKARE et al. (2012): Sie untersuchten an weiblichen Milchrindkälbern ($n=10$) bzw. Milchrindkälbern ($n=36$) im Beobachtungszeitraum von 4. bis 18. bzw. von 5. bis 21. Lebenswoche den Harnstoffkonzentrationsverlauf im Blutplasma. Wie in der vorliegenden Untersuchung ist dort bis zur 6. bzw. 10. Lebenswoche zunächst ein Abfall der Konzentration von

ca. 3,5 mmol/l bzw. ca. 3,3 mmol/l auf ca. 2,9 mmol/l bzw. ca. 2,0 mmol/l zu beobachten und anschließend (bis zur 14. bzw. 16. Lebenswoche) wieder ein moderater Anstieg (auf ca. 4,4 mmol/l bzw. ca. 2,9 mmol/l). Bei STEINHARDT & THIELSCHER (2000), die Milchrindkälber (n=38) im Zeitraum von der 2. bis zur 12. Lebenswoche untersuchten, kam es über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg zu einem stetigen Anstieg (von $3,2 \pm 0,7$ mmol/l auf $4,7 \pm 1,1$ mmol/l). EGLI & BLUM (1998) fanden bei Fleckviehkälbern (n=19) im Zeitraum von der Geburt bis zur 12. Lebenswoche keinerlei signifikante Harnstoffkonzentrationsveränderungen. Sie beobachteten ein konstant bleibendes Niveau der Harnstoffkonzentration. Den Konzentrationsanstieg des Blutplasmaharnstoffs in den Untersuchungen von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) und von HUGI & BLUM (1997) führen beide Autorengruppen auf das sich entwickelnde Vormagensystem und dem damit verbundenen mikrobiellen Abbau von Futterproteinen im Pansen und der Freisetzung von NH_3 zurück. Ist die fermentierbare Futterenergie in Relation zum N-Gehalt im Pansen ungenügend oder letzterer wegen einer Proteinübersversorgung zu hoch, wird dieser NH_3 nicht nur mikrobiell in Aminosäuren fixiert, sondern resorbiert und in der Leber des Wiederkäuers zu Harnstoff umgewandelt (STANGASSINGER 2003; BREVES & LEONARD-MAREK 2010) Verwunderlich ist, dass in vorliegender Untersuchung der niedrigste Harnstoffgehalt im Plasma zur 10. Lebenswoche, also knapp drei Wochen vor der vollständigen Entwöhnung vom Milchaustauscher, zu verzeichnen war. Zu dieser Zeit dürfte die Vormagenentwicklung schon voll in Gange gewesen sein. Möglicherweise war in dieser Umstellungsphase die ruminal fermentierbare Energie ausreichend, um den im Pansen freigesetzten NH_3 mikrobiell in Aminosäuren zu fixieren. Dass in dieser Futterumstellungsperiode die Proteinversorgung der Kälber (vorwiegend aus mikrobiellen Aminosäuren) sehr gut war, lässt auch der deutlich ansteigende Gesamtproteinspiegel im Blutplasma vermuten. Dass im Altersabschnitt 15.-25. Lebenswoche mit dem funktionell bereits entwickelten Pansen das mikrobielle Protein nach Verdauung und Resorption die endogene Proteinverfügbarkeit der Kälber maßgeblich unterstützt, wird am deutlich erhöhten Konzentrationsniveau des Gesamtproteins im Blutplasma sichtbar. Dass dabei über die aus dem Mikrobenprotein endogen reichlich verfügbaren Aminosäuren wiederum ein größerer Anteil von deren C-Gerüsten nicht in der Proteinsynthese sondern im Energiestoffwechsel verwertet wird, dafür spricht das deutlich erhöhte Konzentrationsniveau des Harnstoffs im Blutplasma. Der

anfängliche Harnstoffkonzentrationsabfall zwischen der 4. und 6. Lebenswoche bei HUGI & BLUM (1997) führte die Autoren dieser Studie zur Aussage, sie hätten keine Erklärung hierfür. Der in vorliegender Untersuchung initial (1. Woche: $3,40 \pm 1,59$ mmol/l) vergleichsweise hohe Harnstoffspiegel könnte mit den bereits angesprochenen geweblichen Umbau-/Abbauvorgängen nach der Geburt zu tun haben. Möglicherweise müssen dabei Aminosäuren aus dem Proteinabbau auch energetisch verwendet werden. Die dafür nötige Desaminierung der Aminosäuren treibt zwangsläufig (wie im Hungerzustand üblich) den Harnstoffspiegel im Blut in die Höhe. Zur 2. Lebenswoche ($2,18 \pm 0,76$ mmol/l) dürfte die wachstumsbedingte Proteineigensynthese bereits voll in Gang gekommen sein und auch die energetische Situation der Kälber eher anabol sein, sodass auch die in zunehmendem Umfang resorbierten Aminosäuren vermehrt im Körperproteinansatz und kaum noch im Energiestoffwechsel landen. Der nach der 2. Woche beginnende, ansteigende Konzentrationsverlauf des Gesamtproteins im Blutplasma (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, 4.2.5 Gesamtprotein, Abbildung 4.2.5.1) unterstützt diese Annahme.

Die **Kreatininkonzentration** im Kälberplasma fällt in vorliegender Untersuchung innerhalb der ersten 10 Lebenswochen von $88,53 \pm 10,95$ $\mu\text{mol/l}$ (1. Woche) auf $61,60 \pm 8,18$ $\mu\text{mol/l}$ ab ($=-30\%$), um dann während des restlichen Beobachtungszeitraumes relativ konstant zwischen $57,93 \pm 10,72$ $\mu\text{mol/l}$ und $61,60 \pm 8,18$ $\mu\text{mol/l}$ zu bleiben. Diese Beobachtungen decken sich weitgehend mit denen von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) an Deutsch Holstein Kälbern ($n=38$) und KHAN et al. (2007c) ebenfalls an Holstein Kälbern ($n=64$). Dabei kam es in der Untersuchung von STEINHARDT & THIELSCHER (2000) zu einem kontinuierlichen Abfall des Kreatinins im Blutplasma von $99,8 \pm 16,2$ $\mu\text{mol/l}$ (15. Lebenstag) auf $66,8 \pm 6,2$ $\mu\text{mol/l}$ (90. Lebenstag) ($=-33\%$). KHAN et al. (2007c) verzeichneten einen Kreatininkonzentrationsabfall von $82,21 \pm 5,3$ $\mu\text{mol/l}$ (2. Lebenswoche) auf $69,40 \pm 5,30$ $\mu\text{mol/l}$ (8. Lebenswoche) ($=-15\%$). Im weiteren Beobachtungszeitraum zeigten sich keine statistisch signifikanten Änderungen ($67,63 \pm 3,54$ $\mu\text{mol/l}$ in der 12. Lebenswoche). STEINHARDT & THIELSCHER (2000) vermuten eine Reifung der Nierenfunktion und den geänderten Wasserdurchsatz durch den Tierkörper als ursächlich für die Abnahme der Kreatininkonzentration im Blutplasma. Der Konzentrierungsmechanismus der Nieren wird z.B. erst zwischen 30. und 60. Lebenstag vermehrt wirksam (ABOUZITE et al. 1997). In der Untersuchung von

EGLI & BLUM (1998) an Fleckviehkälbern in Mutterkuhhaltung (n=19) kam es innerhalb der 1. Lebenswoche zu einem Abfall der Kreatininkonzentration im Blutplasma von ca. 290 $\mu\text{mol/l}$ (direkt nach der Geburt) auf ca. 100 $\mu\text{mol/l}$ im Alter von 1 Woche. Im weiteren Beobachtungszeitraum (bis zur 12. Lebenswoche) blieb das Kreatininkonzentrationsniveau (ca. 100 $\mu\text{mol/l}$) konstant. Als möglichen Grund für den Kreatininkonzentrationsabfall innerhalb der 1. Lebenswoche der Kälber sehen EGLI & BLUM (1998) eine Verbesserung der renalen Clearance, also der Nierenfunktion, schließen aber Veränderungen in der Muskelmasse sowie im Muskelabbau nicht aus. Auffallend ist auch das höhere Konzentrationsniveau von Kreatinin im Blutplasma in der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998). Zum Vergleich: Während die Kreatininkonzentration in der 12. Lebenswoche der Kälber bei EGLI & BLUM (1998) bei ca. 100 $\mu\text{mol/l}$ lag, ermittelten STEINHARDT & THIELSCHER (2000) Konzentrationen von $66,8 \pm 6,2 \mu\text{mol/l}$, KHAN et al. (2007c) kamen auf $67,63 \pm 3,54 \mu\text{mol/l}$ und in vorliegender Untersuchung lag die Kreatininkonzentration bei 10 Wochen alten Kälbern bei $61,60 \pm 8,18 \mu\text{mol/l}$ und bei 14 Wochen alten Kälbern bei $57,93 \pm 10,72 \mu\text{mol/l}$. Ein Teil des Kreatins, das bei Muskelarbeit im Muskel entsteht, wird ständig spontan zu Kreatinin abgebaut, welches wiederum über die Nieren ausgeschieden wird. Der Anteil des Kreatins, der zu Kreatinin wird, ist konstant und abhängig von der Muskelmasse des Individuums (DORNBLÜTH 1998; HORN 2009). Möglicherweise spielt bei dem unterschiedlichen Konzentrationsniveau der verschiedenen Untersuchungen die Rasse der Kälber, und damit deren Bemuskelung, eine Rolle. Während EGLI & BLUM (1998) ihre Untersuchungen an Fleckviehkälbern (Zweinutzungsrasse (SAMBRAUS 2001)) durchführten, verwendeten sowohl STEINHARDT & THIELSCHER (2000) als auch KHAN et al. (2007c) Holsteinkälber (Milchrasse (SAMBRAUS 2001)) als Versuchstiere. Die Kälber in vorliegender Untersuchung gehörten unterschiedlichen Rassen (siehe Kapitel 3 Material und Methoden, 3.2 Kälber) an, wobei die Betonung auf Seiten der Milchrasen lag. Vergleicht man die Körpergewichte der Kälber bei den verschiedenen Untersuchungen, so lassen sich auch hier Unterschiede feststellen. Die mittleren Geburtsgewichte der Kälber lagen bei $47 \pm 1 \text{ kg}$ (EGLI & BLUM 1998) bzw. $46,85 \text{ kg}$ (STEINHARDT & THIELSCHER 2000) bzw. $39,20 \text{ kg}$ (KHAN et al. 2007c) bzw. in vorliegender Untersuchung $39,31 \pm 3,66 \text{ kg}$. Mit 12 Wochen wogen die Kälber im Mittel $120 \pm 4 \text{ kg}$ bzw. $124,18 \pm 12,91 \text{ kg}$ bzw. $98,53 \text{ kg}$ bzw. in vorliegender Untersuchung $104,06 \pm 13,87 \text{ kg}$ (14 Wochen). Somit ergeben

sich in der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) mit $0,87 \pm 0,04$ kg/Tag zwar höhere tägliche Zunahmen als bei KHAN et al. (2007c) mit 0,71 kg/Tag und in vorliegender Untersuchung (0,66 kg/Tag bis zur 14. Lebenswoche), aber leicht niedrigere als bei STEINHARDT & THIELSCHER (2000) (0,92 kg/Tag). Auch KNOWLES et al. (2000) beobachteten in ihren Untersuchungen an Kälbern (n=14, Kreuzung von Holstein mit verschiedenen Fleischrinderrassen) einen Kreatininkonzentrationsabfall im Blutplasma innerhalb der ersten 6 Lebenstage von ca. 300 $\mu\text{mol/l}$ auf ca. 80 $\mu\text{mol/l}$ und ein anschließendes Plateau auf diesem Niveau bis zum Ende ihrer Untersuchungen am 83. Lebenstag. KLEE et al. (1985) stellten in ihren Untersuchungen an Kälbern (n=58) einen Kreatininkonzentrationsabfall im Blutserum von $304,99 \pm 113,15$ $\mu\text{mol/l}$ bei der Geburt auf $106,97 \pm 19,45$ $\mu\text{mol/l}$ am 7. Lebenstag fest. Gleichzeitig bestimmten sie die Kreatininkonzentration in der Allantoisflüssigkeit: $18078,21 \pm 4190,25$ $\mu\text{mol/l}$ (n=14). Zwischen der Kreatininkonzentration in der Allantoisflüssigkeit und jener in den Seren der zugehörigen Kälber bestand eine signifikante positive Korrelation. KLEE et al. (1985) vermuten hier eine kausale Beziehung. Aufgrund den von ihnen gemessenen Kreatininkonzentrationen im Kälberplasma kommen sie auf eine Kreatinin-Clearance von 2,2 ml/min/kg beim neugeborenen Kalb, einem Wert, der nicht mit einer verminderten Funktionskapazität der Nieren vereinbar ist.

Dass beim Kreatininspiegel Muskelmasseeffekte vorhanden sind, gilt als Tatsache (DORNBLÜTH 1998; HORN 2009). So ist es auch verständlich, dass die Konzentrationen der 10, 14 und 24 Wochen alten Kälber mit $61,60 \pm 8,18$ bzw. $57,93 \pm 10,72$ und $60,13 \pm 10,32$ $\mu\text{mol/l}$ unterhalb des Referenzbereichs von erwachsenen Rindern (KG 2013) für Kreatinin (88-177 $\mu\text{mol/l}$) zu liegen kommen. Interessant ist, dass der in vorliegender Untersuchung ermittelte altersabhängige Konzentrationsverlauf (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, 4.2.7 Kreatinin, Abbildung 4.2.7.1) von Kreatinin einen Einfluss der Futterumstellung nicht grundsätzlich ausschließt. Aus physiologischer Sicht dürfte es jedoch außerordentlich schwierig werden, die Ursache für den in der Umstellungsphase sichtbar werdenden Kreatininkonzentrationsabfall der Entwicklung des Vormagensystems ursächlich zuzuordnen.

Wie schon zahlreiche Untersuchungen (LUMSDEN et al. 1980; QUIGLEY et al. 1991; HUGI & BLUM 1997; STEINHARDT & THIELSCHER 2000) gezeigt haben,

sinkt die **Glucosekonzentration im Kälberplasma** (auch in dieser Untersuchung) mit ansteigendem Alter der Tiere. Verantwortlich hierfür ist die geänderte Glucoseverfügbarkeit. Beim Milchkalb ist für die Aufrechterhaltung des Blutglucosespiegels die Aufnahme von Lactose aus der Milch verantwortlich. Beim ruminierenden Rind ist es fast ausschließlich die Gluconeogenese, die den Blutglucosespiegel auf einem abgesenkten Niveau aufrecht erhält (STANGASSINGER 2010).

Die absolute Höhe der Glucosekonzentration im Blut bei den ausschließlich mit Milch(austauscher) gefütterten Kälbern ($6,30 \pm 0,74$ mmol/l Ende der 1. Lebenswoche bzw. $5,85 \pm 1,03$ mmol/l Ende der 2. Lebenswoche) entspricht weitgehend den von QUIGLEY et al. (1991) angegebenen Werten ($6,35$ mmol/l nach der Geburt, Holstein Kälber, $n=16$). In anderen Untersuchungen (z.B. STEINHARDT & THIELSCHER (2000)) ist der Glucosespiegel im Blutplasma von 2 Wochen alten Kälbern ($n=38$) eher etwas niedriger ($4,4 \pm 0,6$ mmol/l). Für diese unterschiedlich hohen Glucosekonzentrationen im Kälberplasma könnte die aufgenommene Menge an Milch bzw. Milchaustauscher und/oder der zeitliche Abstand zwischen Milchaufnahme und Blutentnahme ursächlich sein.

Während das mit zunehmendem Alter (und der Entwicklung des Vormagensystems) kontinuierliche Absinken der Glucosekonzentration im Kälberplasma literarisch belegt (siehe oben) als typisch gilt, kommt es in vorliegender Untersuchung nach einem Konzentrationstiefstand ($4,49 \pm 0,63$ mmol/l) in der 14. Woche überraschenderweise zur 24. Lebenswoche hin zu einem erneuten Glucosekonzentrationsanstieg ($5,59 \pm 0,46$ mmol/l). Diese Beobachtung, dass ein vorübergehender Tiefstand in der Glucosekonzentration nach der vollständigen Entwöhnung von der Milch erreicht wird, wurde auch bereits von QUIGLEY et al. (1991) und KLOTZ & HEITMANN (2006) gemacht. Sie führen den Abfall (auf $4,22$ mmol/l bzw. $2,7$ mmol/l) auf eine reduzierte bzw. fehlende Milchaufnahme zurück. Wahrscheinlich ist diese hypoglykämische Situation zusammen mit dem gleichzeitig auch erniedrigten Insulinspiegel (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, 4.2.11 Insulin, Abbildung 4.2.11.1) als wichtiges Signal für eine Stimulation der Gluconeogenese aus den zunehmend ruminal verfügbar werdenden exogenen Vorstufen (z.B. Propionsäure) zu sehen. Ist auf Grund der gleichzeitigen ruminalen Zunahme von energetisch verwertbaren Fermentationsprodukten (Essigsäure, Buttersäure) der oxidative Glucoseverbrauch deutlich eingeschränkt, kann dies zusammen mit der deutlich anlaufenden

Gluconeogenese zu einer erneuten, vorübergehenden Anhebung des Glucosekonzentrationsniveaus führen (z.B. wie in der vorliegenden Untersuchung zur 24. Woche). Dass die Glucosekonzentration mit dem Älterwerden der Tiere wieder absinkt, und zwar auf das wiederkäuertypische Niveau (LUMSDEN et al. 1980), mag damit zusammenhängen, dass der Wiederkäuer seine Gluconeogeneserate den tatsächlichen Glucosebedürfnissen bzw. der energetischen Verfügbarkeit von alternativen Substraten aus dem Pansen anpasst. Da der gluconeogenetische Prozess sehr Energie (ATP) aufwendig ist, ist die bedarfsgerechte Einstellung dieses Prozesses physiologisch sinnvoll. Dass dabei die gluconeogenetisch getragene Glucosehomöostase sich auf einem zum Monogastrier deutlich niedrigeren Niveau einpendelt, ist gleichzeitig auch eine wichtige Voraussetzung dafür, dass endogen bevorzugt die reichlich verfügbar werdenden Fermentationssäuren (Essig-, Buttersäure) zur Deckung des Energieverbrauches herangezogen werden (STANGASSINGER 2010).

Da bekanntermaßen ein Anstieg des Blutzuckerspiegels den Hauptstimulus für die Insulinsekretion darstellt, ist es nicht verwunderlich, dass der Verlauf der **Insulinkonzentration im Blutplasma** dem der Glucose weitgehend gleicht (siehe Kapitel 4 Ergebnisse, 4.2.12 Gegenseitige Einflussnahmen der Konzentrationsverläufe von Glucose und Insulin, Abbildung 4.2.12.1). So ist eine Konzentrationsabnahme des Insulinspiegels im Kälberplasma zwischen der 1. und der 14. Lebenswoche zu verzeichnen. Auf das Konzentrationstief zur 14. Woche ist analog zur Glucosekonzentration ein Wiederanstieg der Insulinkonzentration zur 24. Lebenswoche zu verzeichnen. Ganz ähnliche Beobachtungen haben HUGI & BLUM (1997) gemacht: Zwar waren die Ausgangswerte zur 4. Lebenswoche mit 59,97 mU/l etwas höher als in vorliegender Untersuchung (46,31 mU/l), aber auch bei deren Versuchstieren kam es zu einem Konzentrationsabfall des Insulins (auf 11,99 mU/l) bis zur 14. Lebenswoche. Eine mögliche Erklärung für das anfänglich höhere Insulinkonzentrationsniveau bei HUGI & BLUM (1997) könnte eine höhere Milchmengenaufnahme sein, denn deren Beprobung hat in der 4. Lebenswoche der Kälber begonnen. Die Tiere nehmen hier bereits deutlich mehr Milch (und damit auch mehr Lactose) auf als in der 1. Lebenswoche. In der 14. Lebenswoche, also bei entwöhnten Kälbern, ist die Insulinkonzentration in deren und unserer Untersuchung mit 11,99 mU/l bzw. 13,43 mU/l sehr ähnlich. HUGI & BLUM (1997) begründen diese

Konzentrationsabnahme mit dem, mit der Entwöhnung einhergehenden, reduzierten nutritiven Stimulus für die Insulinausschüttung. Dies wäre auch für die hier vorliegenden mittleren Insulintiefstwerte eine mögliche Erklärung, zumal die Milchaustauscherfütterung ab der 13. Lebenswoche vollständig ausgesetzt wird. Während die mittlere Insulinkonzentration bei den Versuchstieren von HUGI & BLUM (1997) in den folgenden vier Wochen tendenziell weiter (auf 7,20 mU/l) absinkt und auch das Glucoseniveau in diesem Zeitraum tendenziell absinkt (von 4,5 mmol/l auf 4,2 mmol/l), kommt es in vorliegender Untersuchung innerhalb der nächsten zehn Wochen, also zwischen 14. und 24. Lebenswoche der Kälber, zu einem signifikanten Konzentrationsanstieg des Insulins (auf 31,43 mU/l). Dieses Ergebnis muss allerdings noch keinen Widerspruch zu den Daten von HUGI & BLUM (1997) bedeuten, da deren Untersuchungen mit der 18. Lebenswoche beendet waren. Passend zu dem signifikanten Wiederanstieg des Plasmainsulinspiegels in der 24. Lebenswoche ist die zu diesem Zeitpunkt ebenfalls signifikant angestiegene Plasmaglukosekonzentration. Dass Glucose ein starker Stimulus für die Insulinsekretion ist, belegen u.a. auch die Untersuchungen von HOSTETTLER-ALLAN et al. (1994), die einen Anstieg der Insulinkonzentration (von ca. 50 mU/l im Alter von 5 ± 1 Woche auf 850 mU/l im Alter von 17 ± 1 Woche) im Plasma von Mastkälber ($n=20$), die mit Milchaustauscher ernährt wurden, beobachtet haben. Aber auch kurzkettige Fettsäuren führen zu einer Insulinausschüttung. So wäre es auch denkbar, dass bei den 24 Wochen alten Kälbern durch eine im größeren Umfang Kohlenhydrat-fermentierende Pansenflora im Gegensatz zu den 14 Wochen alten Kälbern vermehrt kurzkettige Fettsäuren gebildet und resorbiert werden, die dann für den höheren Insulinspiegel verantwortlich sind. In der Untersuchung von KLOTZ & HEITMANN (2006) kam es auch zu einem Abfall der Plasmainsulinkonzentration bei Jersey Stierkälbern ($n=24$) von 3,05 mU/l (1. Lebenswoche) auf 0,42 mU/l (7. Woche, Entwöhnung) um anschließend wieder auf 5,02 mU/l (16. Woche) anzusteigen. Dabei hat sich allerdings kein kontinuierlicher Abfall und Wiederanstieg der Insulinkonzentration im Kälberplasma gezeigt. Die Konzentrationen haben im Beobachtungszeitraum stark variiert. Auffallend sind auch die insgesamt deutlich niedrigeren Insulinkonzentrationen als in der Untersuchung von HUGI & BLUM (1997) und in vorliegender Untersuchung. Zumindest während der Milchphase könnte die geringere Milch(austauscher)menge für die niedrigeren Insulinkonzentrationen in der Untersuchung von KLOTZ & HEITMANN (2006)

verantwortlich sein. So liegen die maximal verfütterten Mengen bei KLOTZ & HEITMANN (2006) bei 3,8 l/Tier/Tag, bei HUGL & BLUM (1997) sind es 7 l/Tier/Tag und in vorliegender Untersuchung 9 l/Tier/Tag. Parallelen zu den hier vorliegenden altersabhängigen Konzentrationsveränderungen beim Insulin können bei der Untersuchung von EGLI & BLUM (1998) nicht gefunden werden: nach einem deutlichen Anstieg innerhalb des 1. Lebensstages (von ca. 14,39 mU/l auf ca. 26,38 mU/l) blieb die Insulinkonzentration während des weiteren Beobachtungszeitraumes (bis zur 12. Lebenswoche) annähernd konstant.

Auffallend sind die alters- bzw. fütterungsabhängigen Veränderungen beim Variationskoeffizient (%) der mittleren Insulinkonzentrationen. Während er in der Phase der ausschließlichen Milchaustauscherfütterung aber auch in der Phase der Milchaustauscher-ergänzten wiederkäuergerechten Fütterung besonders hoch ausfällt (60-80 %), nimmt er in der Phase der ausschließlichen Festfutterfütterung deutlich ab (30-55 %). Ursächlich für Letzteres dürfte durch die „Pufferwirkung“ der Vormagenverdauung zustande gekommen sein. D.h. individuelle Unterschiede in Zeitpunkt und Volumen des Verzehrs (insbesondere von Kohlenhydraten) werden durch die der Dünndarmverdauung vorgelagerten Futterspeicherung und der dadurch etwas kontinuierlicher ablaufenden Verdauung im Vormagensystem egalisiert („gepuffert“). Die resorptive Anflutung von nutritiven Energiesubstraten (hier: kurzkettige Fettsäuren) als Stimulus für die Insulinausschüttung wird dadurch weniger anfällig für individuelle Abweichungen (siehe oben) in der Nährstoffaufnahme. Diese hier sichtbar werdende „Stabilisierung“ bzw. „Dämpfung“ der Insulinsekretion könnte als eine Art Beleg verstanden werden für die oft in der Literatur verkündete (aber nicht eindeutig belegte) nutritive „Insulin-Unempfindlichkeit“ der Wiederkäuer. Ein Beleg dafür, dass die Intensität der Insulinausschüttung aus der B-Zelle ganz maßgeblich vom Energiegehalt (=ATP-Ertrag) des resorbierten und dort „anflutenden“ Energiesubstrates (Glucose>Aminosäuren>kurzkettige Fettsäuren) abhängt und demzufolge nur wegen der nutritiven Situation der Wiederkäuer eine scheinbar tierarten-spezifische „Insulinsituation“ entsteht.

Was ARUI (1993) bereits bei heranwachsenden Lämmern gezeigt hat, bestätigt sich in vorliegender Untersuchung auch für Kälber: Die **Hippursäurekonzentration im Blutplasma** steigt im Verlauf der Entwöhnung deutlich (von 0,00 µmol/l in der 2.

Lebenswoche auf $52,52 \pm 27,13 \mu\text{mol/l}$ in der 14. Lebenswoche) an. Während der Phase der ausschließlichen Milchaustauscherfütterung ist keinerlei Hippursäure im Blut nachzuweisen. Aber schon im Alter von 6 Wochen, also nachdem den Kälbern bereits über einen Zeitraum von 4 Wochen festes Futter zusätzlich zum Milchaustauscher angeboten wurde, findet sich Hippursäure in zunehmender Konzentration im Blut. Dieser im Verlauf der Entwöhnung signifikant werdende Anstieg steht eindeutig im Zusammenhang mit der Aufnahme und der Fähigkeit der digestiven Verwertung pflanzlicher Nahrung bzw. deren „sekundären“ Inhaltsstoffen (z.B. phenolische Verbindungen). Phenole sind aromatische Verbindungen, die mindestens eine Hydroxylgruppe (oder deren funktionelle Derivate) am aromatischen Ringsystem tragen. Im Gegensatz zu Tieren sind Pflanzen in der Lage aromatische Ringsysteme de novo, v.a. über den Shikimat-Weg und den Acetat-Malonat-Weg, aufzubauen. Sowohl die primären Produkte (Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan) als auch Intermediate des Shikimat-Wegs sind Ausgangspunkt weiterer Stoffwechselwege, deren Ergebnis eine große Mannigfaltigkeit phenolischer Verbindungen ist (JÄGER et al. 2003; WEILER & NOVER 2008). Einige wichtige Gruppen davon sind die einfachen Phenole (z.B. Hydrochinon), die Phenolcarbonsäuren (z.B. Benzoesäure, Gallussäure), die Phenylpropane (z.B. Zimtsäure) und die Flavonoide. Lignin wird von einigen Autoren als Hauptphenolquelle in Futterpflanzen angegeben (JUNG & FAHEY 1983; JABLONKA 1996). Diese Autoren sprechen von „core-Lignin“ als dem unverdaulichen Anteil und „non-core-Lignin“ als dem verdaulichen. Das „non-core-Lignin“ sorgt für die Quervernetzung der hochkondensierten Phenylpropaneinheiten, des „core-Lignins“, mit den Zellwandkohlenhydraten, vornehmlich der Hemicellulosen (SÜDEKUM & HASSELMANN 1989). Es besteht hauptsächlich aus den 2 phenolischen Zimtsäuren p-Cumarsäure und Ferulasäure, die auch quantitativ die wichtigsten phenolischen Monomere in Gräsern und Leguminosen darstellen (HARTLEY & JONES 1978). Neben p-Cumarsäure und Ferulasäure existieren noch weitere phenolische Monomere, z.B. p-Hydroxybenzoesäure oder Vanillinsäure, die als Bindeglied fungieren (JUNG et al. 1983). Benzoesäure, eine aromatische Säure, stammt hauptsächlich von phenolischen Verbindungen in Futterpflanzen (JABLONKA 1996). Sie wird beim Wiederkäuer überwiegend als Glycinkonjugat in Form von Hippursäure ausgeschieden (MARTIN 1969; 1973). 97 % der bei Pflanzenfressern renal ausgeschiedenen Hippursäure stammt aus exogener Herkunft (MARTIN 1969).

Auffällig ist, dass während der Phase der ausschließlichen Festfutterfütterung keine weitere Konzentrationszunahme der Hippursäure im Blutplasma trotz weiter steigender Futteraufnahme zu beobachten ist. Es stellt sich ein gewisses Konzentrationsplateau für Hippursäure ein. Vergleicht man allerdings die hierbei erreichten Werte ($56,64 \pm 14,16 \mu\text{mol/l}$ in der 24. Woche) mit den Ergebnissen von JABLONKA (1996), so zeigt sich, dass 2,5 Jahre alte Ochsen ($n=5$) mit $72,83 \pm 31,16 \mu\text{mol/l}$ deutlich höhere Hippursäurekonzentrationen im Blutplasma aufweisen als 24 Wochen alte Kälber. Es ist naheliegend, dass verglichen mit den Kälbern die bei Ochsen höhere Trockenmasseaufnahme ($4,21 \text{ kg/Tag}$ vs. $6,86 \text{ kg/Tag}$) und der daraus verfügbaren größeren Menge an sekundären Futterinhaltsstoffen für diesen Konzentrationsunterschied maßgeblich verantwortlich ist. Trotz gleich bleibendem Konzentrationsniveau der Hippursäure innerhalb der Phase der ausschließlichen Festfutterfütterung kommt es doch zu einer auffälligen Änderung: Der Variationskoeffizient zum Hippursäuremittelwert nimmt zwischen der 14. und der 24. Lebenswoche um über 50 % ab. Möglicherweise zeigt sich hierin das Auftreten bzw. das Erreichen einer Grenze bei der metabolisch getragenen Umwandlung von resorbierten phenolischen Pflanzeninhaltsstoffen in Hippursäure. Eine derartige maximale Auslastung dieses metabolischen Biotransformationsprozesses könnte dazu führen, dass trotz weiter steigendem Futtermittelverzehr und der dabei auch auftretenden individuellen Unterschiede bei den Kälbern eine „Vereinheitlichung“ über die in diesem Lebensabschnitt maximal mögliche Hippursäurebildung stattfindet. Interessant ist, dass auch bei der Untersuchung an 2,5 Jahre alten Ochsen (JABLONKA 1996) sich Kapazitätsgrenzen bei der Synthese von Hippursäure aufzeigen. So führte eine intraabomasale Benzoatapplikation zu einem Anstieg der Hippursäurekonzentration im Blut. Dieser Anstieg unterschied sich jedoch trotz unterschiedlicher Benzoatdosis nicht wesentlich, es wurde eine Art Maximum erreicht, an das sich ein Plateau bei einer durchschnittlichen Konzentration von $197,54 \mu\text{mol/l}$ anschloss. Bei der in Leber und Niere stattfindenden Hippursäuresynthese kommt es unter Beteiligung der Benzoyl-CoA-Ligase in einem ersten Schritt zur Aktivierung der Benzoesäure durch ATP wobei Benzoyladenylat entsteht. In einem zweiten Schritt wird, ebenfalls unter Beteiligung der Benzoyl-CoA-Ligase Benzoyl-CoA gebildet. Im dritten Schritt erfolgt die Verknüpfung mit Glycin unter Beteiligung der Glycin-Benzoyl-CoA-Ligase (BELIVEAU & BRUSILOV 1987). Folglich spielt die Verfügbarkeit von Glycin eine wichtige Rolle bei der

Hippursäuresynthese. In Anbetracht der Tatsache, dass der Anteil des Hippursäurestickstoffs im Harn nur 4,75 % (Ochsen, Fütterung nach Erhaltungsbedarf) des Gesamtstickstoffs beträgt, vermutet JABLONKA (1996), dass der unter natürlichen Bedingungen aus dem Futter verfügbare Gehalt an Phenolmonomeren gering ist und damit auch die Hippursäuresynthesekapazität, mit einem akuten Glycinmangel in der Folge, nicht maximal ausgelastet ist. Dennoch werden beachtliche Mengen an Glycin zur Ausscheidung der Phenole benötigt. So haben die Ochsen in der Untersuchung von JABLONKA (1996) in 24 Stunden durchschnittlich 0,32 mmol Glycin/kg KG verbraucht. Für die Synthese von Kreatin, Porphyrinen und Purinen, welche wichtige glycinverbrauchende Reaktionen darstellen, wurden dagegen in der Untersuchung von YU et al. (1985) beim Menschen (n=8) zusammen nur ca. 0,29 mmol Glycin/kg KG/Tag benötigt. Denkbar wäre jedoch, dass bei den Kälbern in vorliegender Untersuchung insofern doch ein, zumindest vorübergehender, Glycinmangel vorliegt, weil die Kälber sich im Wachstum befinden und eine solche Wachstumssituation mit einem hohen Aminosäurenbedarf einhergeht.

Als Stoffwechselmetabolit eines resorbierten mikrobiellen Kohlenhydratfermentationsproduktes (Buttersäure) scheint auch die Bestimmung von **β -Hydroxybutyrat im Kälberplasma** geeignet zu sein, um Rückschlüsse auf den strukturellen und funktionellen Entwicklungsstand des Vormagensystems und dabei insbesondere des Pansenepithels zu ziehen.

Im Rahmen des mikrobiellen Abbaus von pflanzlichen komplexen Kohlenhydraten im Zellinneren (Stärke) und in der Zellwand (Cellulose, Pectine, Hemicellulosen) und nachfolgender anaerober Glykolyse der freigesetzten Monosaccharide werden kurzkettige Fettsäuren, vornehmlich Acetat, Propionat und Butyrat, gebildet (DIRKSEN 1981; BREVES & LEONARD-MAREK 2010). In Resorptionsstudien wurde wiederholt beobachtet, dass die hauptsächlich im Pansen luminal aufgenommenen kurzkettigen Fettsäuren nicht in gleichem Umfang wieder basolateral ans Pfortaderblut abgegeben werden (MARTENS 2010b). Während der Resorption findet eine VFA spezifische Metabolisierung im Pansenepithel statt. So vermag das Stratum Spinosum (JESSE et al. 1995) des Pansenepithels aus Propionat Laktat (Elliot 1980) und aus Butyrat insbesondere β -Hydroxybutyrat, aber auch Acetoacetat zu bilden. Beim gefütterten Wiederkäuer stammen 74-94 % der

gesamten β -Hydroxybutyratproduktion im Pansenepithel aus Butyrat. Acetat und langkettige Fettsäuren tragen nur in geringem Maße bei (LENG & WEST 1969). 75-80 % des vom Pansen resorbierten Butyrats werden in Ketonkörper umgewandelt (JESSE et al. 1995). Aus dem mikrobiell im Pansen produzierten Butyrat wird β -Hydroxybutyrat zu ca. 70 % im Pansenepithel und zu ca. 30 % in der Leber gebildet (HIRD & WEIDEMANN 1964). In vitro Untersuchungen am Pansenepithel von Schafen und Rindern haben ergeben, dass es für die β -Hydroxybutyratproduktion aus Butyrat verschiedene Wege (z.B. über Acetoacetyl-CoA oder Vinylacetyl-CoA) gibt (EMMANUEL et al. 1982). Beim neugeborenen Wiederkäuer fehlen noch viele der für diese Synthese notwendigen Schlüsselenzyme (JESSE et al. 1995). BALDWIN & JESSE (1992) haben zu isolierten Pansenzellen von Lämmern in vitro Butyrat gegeben. Bereits 4 Tage nach der Geburt konnten sie eine Produktion von β -Hydroxybutyrat nachweisen. Die Lämmer konnten ad libitum Milch bei ihren Müttern trinken und erhielten Luzerneheu und mit Mineralsalz und einem Vitaminmix versetzte gequetschte Gerste. Bis zum 42. Lebenstag blieb die β -Hydroxybutyratproduktion konstant gering (bei ca. $4 \text{ nmol}/(1 \cdot 10^6 \text{ Zellen} \cdot 120 \text{ min})$) um am 56. Lebenstag auf das 10-fache anzusteigen. Dies zeigt, dass die ketogenetische Kapazität pro Zelle vor der Entwöhnung relativ konstant bleibt. Eine bereits während dieses Zeitraumes ansteigende Konzentration von β -Hydroxybutyrat im Blut reflektiert also die zunehmende ruminale Masse und Zellzahl. Während des epithelialen Wachstums kommt es zu weitreichenden metabolischen Veränderungen, insbesondere zu einem Anstieg der ketogenen Kapazität (STANGASSINGER & GIESECKE 1986). Während bei 1-2 Wochen alten Lämmern Butyrat im Pansenepithel hauptsächlich zu CO_2 oxidiert wird, mit einem Ketogenese:Oxidations-Verhältnis von 0,2, steigt dieses Verhältnis bei 10 Wochen alten Lämmern auf einen Wert von 1,2 (BECK 1982). Nach BUSH (1988) ist die β -Hydroxybutyratproduktion des Pansenepithels bei bereits entwöhnten Kälbern im Alter von 60 Lebenstagen genauso hoch wie bei erwachsenen Rindern.

In vorliegender Untersuchung kommt es zu einem signifikanten Anstieg (von $0,01 \pm 0,03 \text{ mmol/l}$ in der 1. Lebenswoche auf $0,35 \pm 0,13 \text{ mmol/l}$ in der 24. Lebenswoche, $=+3400 \%$) der β -Hydroxybutyratkonzentration im Kälberplasma im Verlauf der Entwöhnung von dem Milchaustauscher. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen einiger anderer Autoren für diesen Lebensabschnitt. HUGI & BLUM (1997) beobachteten einen Anstieg der β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma

von Kälbern (n=10) von ca. 0,05 mmol/l (4. Lebenswoche) auf ca. 0,38 mmol/l (18. Lebenswoche) (=+660 %). In der Untersuchung von KNOWLES et al. (2000) stiegen die Konzentration von β -Hydroxybutyrat im Blutplasma von Kälbern (n=14) von ca. 0,1 mmol/l (Geburt) auf 0,39 mmol/l (12. Lebenswoche) (=+290 %). Auch KLOTZ & HEITMANN (2006) verzeichnen in ihren Untersuchungen diesen Anstieg (von ca. 0,1 mmol/l in der 1. Lebenswoche auf ca. 0,9 mmol/l in der 16. Lebenswoche, =+800 %). Allerdings pendelte sich das Konzentrationsniveau im Blutplasma der Kälber (n=24) zwischen der 10. und 16. Lebenswoche auf einem höheren mittleren Niveau (zwischen 0,8 und 1,0 mmol/l) ein. Bei Holstein Kälbern (n=16) stieg in der Untersuchung von QUIGLEY et al. (1991) die β -Hydroxybutyratkonzentration im Plasma von ca. 0,1 mmol/l im Alter von 1 Woche auf ca. 1,08 mmol/l in der 15. Lebenswoche (=+980 %). Die Kälber wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei bei der früh entwöhnten (ca. 5. Lebenswoche) Gruppe die β -Hydroxybutyratkonzentration im Plasma schon früher anstieg als in der spät entwöhnten (ca. 9. Lebenswoche) Gruppe. Am Ende ihrer Untersuchungen in der 15. Lebenswoche lag die β -Hydroxybutyratkonzentration in beiden Gruppen auf dem gleichen Niveau. Dieser deutliche Anstieg der β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma konnte von EGLI & BLUM (1998) für Kälber (n=19) in Mutterkuhhaltung nicht bestätigt werden. Zum Zeitpunkt der Geburt lag die Konzentration bei 0,1 mmol/l. Im weiteren Verlauf war aber nur eine vorübergehende Erhöhung am 56. Lebenstag auf 0,149 mmol/l zu erkennen. Bis zum Ende ihrer Untersuchungen am 84. Lebenstag stieg die β -Hydroxybutyratkonzentration im Blutplasma noch einmal, allerdings nicht signifikant, auf 0,16 mmol/l. Insgesamt war die Variation in der Versuchsgruppe mit 0,006-0,41 mmol/l groß. Anscheinend ist die Aufnahme von festem Futter bei diesen Kälbern am Ende der Untersuchung noch auf sehr niedrigem und tierindividuell sehr unterschiedlichem Niveau. Es wäre denkbar, dass die Kälber auch mit 12 Wochen noch Milch aufnehmen und dies auch tierindividuell in sehr unterschiedlicher Menge.

Deutlich wird in der vorliegenden Untersuchung, dass bereits zur 10. Woche hin die β -Hydroxybutyratkonzentration im Kälberplasma tendenziell, und zur 14. Lebenswoche hin signifikant, ansteigt. Das bedeutet, dass im Pansen einerseits bereits eine mikrobielle Buttersäureproduktion stattfindet und dass andererseits auch deren Resorption übers Pansenepithel und dabei deren teilweiser Metabolisierung zu β -Hydroxybutyrat möglich ist.

5.4 Schlussbetrachtung

Die Ergebnisse dieser Feldstudie belegen, dass es auch unter den Bedingungen eines überschaubaren praxisrelevanten tierexperimentellen Aufwandes (einmalige Blutentnahme) möglich ist, mittels des altersabhängigen Konzentrationsverlaufes von physiologischen Blutparametern einen Einblick in die Dynamik von strukturellen und funktionellen Veränderungen, die mit der Vormagenentwicklung einhergehen, zu gewinnen. Diejenigen Blutparameter, deren Konzentrationsdynamik sich während der Entwöhnungsphase besonders markant und auch signifikant darstellt, sind neben dem Gesamtprotein insbesondere die Hippursäure und β -Hydroxybutyrat. Während der entwicklungsbedingte Konzentrationsanstieg beim erstgenannten Parameter sehr wahrscheinlich die zunehmende Aminosäurenverfügbarkeit aus dem verdauten Protein der deutlich zunehmenden Mikroflora im sich entwickelnden Pansen widerspiegelt, geben die Parameter Hippursäure und β -Hydroxybutyrat eine etwas differenziertere Antwort. So hat der entwöhnungsbedingte Hippursäurekonzentrationsanstieg eindeutig mit dem Übergang auf festes, pflanzliches Futter zu tun. Gleichzeitig zeigt er aber auch, dass die mikrobiell getragene Verdauung des Pansens deutlich in Gang kommt und, dass die Kälber bereits über eine – zunächst noch limitierte – Biotransformationskapazität, z.B. in der Leber, verfügen. Findet in der Phase der ausschließlichen Festfutterfütterung pflanzlichen Ursprungs keine Änderung in der Rationszusammensetzung (mit unterschiedlichen Gehalten an phenolischen Bestandteilen) statt, dann ist der Informationsgehalt (siehe oben) der Konzentrationsdynamik von Hippursäure recht eindeutig. Obwohl die β -Hydroxybutyratkonzentrationsdynamik scheinbar recht eindeutig die vorgenommene Futterumstellung und die dadurch induzierte ruminale und mikrobielle Entwicklung bei den Kälbern widerspiegelt, darf nicht vergessen werden, dass die Konzentration dieses Parameters mehr oder minder deutlich auch durch andere Faktoren beeinflusst werden kann. So wird β -Hydroxybutyrat aus der mikrobiell im Pansen produzierten Buttersäure nur zu ca. 70 % im Pansenepithel gebildet. Zu ca. 30 % wird β -Hydroxybutyrat aus dieser kurzkettigen Fettsäure auch in der Leber gebildet (HIRD & WEIDEMANN 1964). Unter gleichzeitigen katabolen Stoffwechselbedingungen (z.B. Fütterung ist nicht bedarfsgerecht) kann

β -Hydroxybutyrat auch aus dem unvollständigen oxidativen Abbau von langkettigen Fettsäuren entstehen.

In gewisser Weise enttäuschend sind die Ergebnisse zur altersabhängigen Allantoinkonzentrationsdynamik. Ausgehend vom derzeitigen Stand der Literatur war hier mehr zu erwarten, denn es gilt als eindeutig (experimentell) gesichert, dass das Allantoinkonzentrationsniveau im Blut von Wiederkäuern ganz maßgeblich von der exogenen Purinbasenzufuhr aus verdauten mikrobiellen Nucleinsäuren abhängt. Aber bei der Interpretation von Allantoingehalten im Blut, insbesondere bei wachsenden Wiederkäuern, sollte ebenfalls nicht vergessen werden, dass der endogene Nucleinsäurenstoffwechsel (z.B. bei Belastungssituationen) in recht unterschiedlichem Ausmaß an einer Anhebung aber auch an der Absenkung (endogener synthetischer Verbrauch von exogen resorbierten Purinbasen) der im Blutplasma erfassten Allantoinkonzentration beteiligt sein kann. Offensichtlich sind derartige „extraruminale“ metabolische Prozesse auch am Zustandekommen der in der vorliegenden Untersuchung erfassten Konzentrationsdynamik von Allantoin im Blutplasma beteiligt.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Ist die funktionelle Vormagenentwicklung mittels Blutparameter-Monitoring in einer Feldstudie an Kälbern darstellbar?

In der nachgeburtlichen Wachstumsphase des zunächst funktionell monogastrischen Kalbes entwickelt sich in Abhängigkeit vom Übergang zur wiederkäuerspezifischen Fütterung auch das Vormagensystem strukturell und funktionell. Letzteres bringt auch weitreichende metabolische Anpassungen bzw. Veränderungen mit sich. Ziel dieser Arbeit war es, im Feldversuch, also unter Praxisbedingungen, mittels Blutentnahmen bei Kälbern (pro Entnahmezeitpunkt jeweils $n=15$) in einem vorgegebenen, altersabhängigen Beprobungszeitraum die Konzentrationsdynamik diverser Blutparameter (Allantoin, Hippursäure, Pseudouridin, Melatonin, Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Triglyceride, β -Hydroxybutyrat, Glucose und Insulin) mit bekanntem bzw. theoretischem Bezug zur oben genannten Entwicklung zu verfolgen. Gleichzeitig galt es dabei auch zu prüfen, ob an Kälbern im Praxisbetrieb überhaupt die Möglichkeit einer Marker(Blutparameter)-getragenen Verfolgung der anatomischen und physiologischen Entwicklung des Kalbes zum Wiederkäuer, wie es bereits für einige Parameter unter weitgehend standardisierten Haltungsbedingungen erfolgreich gelang, zu erkennen. Dazu wurden einmal täglich Blutproben von Kälbern (Grundgesamtheit $n=31$, 4 Fleckvieh, 4 Schwarzbunte, 2 Murnau-Werdenfelser, 19 Fleckvieh/Schwarzbunte, 1 Fleckvieh/Braunvieh, 1 Fleckvieh/Gelbvieh) genommen, und zwar im Alter von 1 und 2 Wochen (ausschließliche Kolostrum-/Milchaustauscherfütterung: Tag 1-14), 6 und 10 Wochen (Umstellungsphase: abnehmende Milchaustauscherfütterung und zunehmende Festfutterfütterung von Tag 15 bis Tag 90) sowie 14 und 24 Wochen (ausschließlich Festfutter: Heu, Milchvieh-TMR und Kraftfutter). Die Körpergewichtsentwicklung wurde zur Geburt und in den Lebenswochen 14 und 24 erfasst. Analytisch erfasst wurden die Parameter im Blutplasma wie folgt: HPLC (Allantoin, Hippursäure, Pseudouridin, Melatonin), IRMA (Insulin) und enzymatisch (Gesamtprotein, Harnstoff, Kreatinin, Triglyceride, β -Hydroxybutyrat und Glucose). Bezüglich des altersabhängigen Konzentrationsverlaufes von Melatonin und den Triglyceriden ergaben sich keine statistisch signifikanten Veränderungen, die mit dem Futterwechsel (Entwöhnung) in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden

könnten. Die Gesamtproteinkonzentration im Kälberblutplasma zeigte im Verlaufe der Entwöhnung einen sigmoid ansteigenden (+30,6 %) Konzentrationsverlauf auf einen neuen Plateauwert von $72,61 \pm 4,56$ g/l. Allantoin ist im Kälberplasma, ausgehend von einem hohen Konzentrationswert ($282,68 \pm 108,53$ $\mu\text{mol/l}$) zur 1. Lebenswoche innerhalb der ersten 10 Lebenswochen gesunken (-39,3 %), um anschließend nur tendenziell wieder anzusteigen (+21,5 %). Der Konzentrationsverlauf von Pseudouridin zeigt bereits während der ersten beiden Lebenswochen (ausschließlich Milchaustauscherfütterung) einen Abfall um 48,9 %. Ein Einfluss der Futterumstellung blieb aus, denn im weiteren Beobachtungszeitraum (bis zur 24. Lebenswoche) waren keine Änderungen im Pseudouridinkonzentrationsverlauf mehr zu verzeichnen. Sowohl Harnstoff (-45,9 %) als auch Kreatinin (-30,4 %) zeigen einen signifikanten Konzentrationsabfall im Blutplasma zwischen der 1. und der 10. Lebenswoche. Während die Kreatininkonzentration im weiteren Beobachtungszeitraum (bis zur 24. Lebenswoche) plateauartig niedrig (zwischen $57,93 \pm 10,72$ und $61,60 \pm 8,18$ $\mu\text{mol/l}$) bleibt, kommt es beim Harnstoff in der Phase der ausschließlichen Festfutterfütterung (14.-24. Woche) zu einem wiederholten Konzentrationsanstieg (+70,7 % bis zur 14. Lebenswoche) mit nachfolgender Plateaubildung. Die Verläufe der Glucose- und der Insulinkonzentration im Blutplasma sind auffallend ähnlich. Während die Glucosekonzentrationsabnahme (-28,7 %) in der Entwöhnungsphase die stattfindende Ernährungsumstellung widerspiegelt (von der resorptiven zur gluconeogenetischen Glucoseverfügbarkeit), folgt der Insulinkonzentrationsverlauf (-71,0 %) offensichtlich der sich ändernden Blutglucose. Interessanterweise steigt zur 24. Lebenswoche, also innerhalb der reinen Festfutterfütterungsphase, die Konzentration von Glucose (+24,5 %) aber auch die von Insulin (+34,0 %) wieder an. Besonders markant zeigen die altersabhängigen Konzentrationsverläufe von Hippursäure und von β -Hydroxybutyrat im Blutplasma die während der Umstellung von Milch auf festes Futter im sich entwickelnden Vormagensystem stattfindenden digestiven und resorptiven Änderungen bzw. Neuerungen. Während dieser maßgeblich ruminal (β -Hydroxybutyratproduktion aus Buttersäure im Pansenepithel) verursachte Anstieg beim β -Hydroxybutyrat erst mit der 14. Lebenswoche signifikant wird und nachfolgend zur 24. Lebenswoche plateauartig stabil bleibt, ist er bei der Hippursäure bereits zur 10. Lebenswoche hin signifikant. Nach einem weiteren Anstieg zur 14. Lebenswoche (+ 140,1 %) bleibt die Hippursäurekonzentration bis

zur 24. Woche ebenfalls plateauartig stabil. Auch wenn sich bei beiden Parametern, trotz des sich in seinen kapazitiven Eigenschaften weiter entwickelnden Vormagensystems, zwischen der 14. und 24. Woche ein Konzentrationsplateau einstellt, ist die Dynamik des Konzentrationsverlaufes von Hippursäure und β -Hydroxybutyrat in den Wochen davor durchaus in der Lage, die veränderte Fütterungssituation bzw. die dadurch induzierte funktionelle Vormagenentwicklung aufzuzeigen. Die Ergebnisse werden unter Einbindung bereits publizierter Erkenntnisse und vor dem Hintergrund der praxisorientierten Versuchsbedingungen diskutiert.

7 SUMMARY

Is there a chance to show the functional development of the forestomach via blood parameter monitoring in a field study with calves?

In the post-natal growth phase of the calf, which is at birth monogastric, the development of the forestomachs is functionally and structurally dependent on the transition to ruminant-specific feed. This development of the forestomachs brings with it extensive metabolic adaptations/changes. The aim of this study is to track in the setting of practical conditions – in a field study – the concentration dynamic of various blood parameters (allantoin, hippuric acid, pseudouridine, melatonin, total protein, urea, creatinine, triglyceride, β -hydroxybutyrate, glucose and insulin) with reference to existing knowledge and theory of the above-mentioned development. This will be done by taking blood samples from calves (n=15 at each blood sampling) in a pre-determined, age-specific observation period. It is also the aim of this study to test whether, in natural conditions, it is at all possible to trace, through blood parameter markers, the anatomical and physiological development of the calf into a ruminator. Such a test has already been successfully done for some parameters under standardised conditions. To achieve this, daily blood samples were taken from calves (basic pool n=31, 4 Fleckvieh, 4 Schwarzbunte, 2 Murnau-Werdenfelser, 19 Fleckvieh/Schwarzbunte, 1 Fleckvieh/Braunvieh, 1 Fleckvieh/Gelbvieh) at the age of 1 and 2 weeks (exclusively fed on milk replacer: days 1-14), 6 and 10 weeks (transition phase: decreasing milk replacer and increasing solid feed: days 15-90) and finally 14 and 24 weeks (solid feeds only: hay, TMR and concentrates). The development of body weight was recorded at birth and in the 14th and 24th weeks of life. The blood plasma parameters were recorded as follows: HPLC (allantoin, hippuric acid, pseudouridin, melatonin), IRMA (insulin) and enzymatically (total protein, urea, creatinine, triglyceride, β -hydroxybutyrate and glucose). Regarding the age-related development of the concentration of melatonin and triglycerides, no statistically significant changes associated with the change in feeding (weaning) were found. The total protein concentration in the plasma of the calves showed a sigmoidal increase (+30.6 %) during weaning, reaching a new plateau value of 72.61 ± 4.56 g/l. Based on a high value of concentration (282.68 ± 108.53 μ mol/l) after the first week of life, allantoin in the plasma of the calves decreased within the first 10 weeks of life

and subsequently increased again only by trend (+21.5 %). Already within the first two weeks of life, with the calves fed exclusively on milk replacer, the concentration development of pseudouridine shows a decrease of 48.9 %. The change in feeding had no impact, as in the subsequent observation period (up to the 24th week of life) there were no more changes in the pseudouridine concentration development. Urea (-45.9 %) as well as creatinine (-30.4 %) show a significant decline in blood plasma concentration between the 1st and 10th weeks of life. Whereas the concentration of creatinine in the next observation period (up to 24 weeks) shows a sideways movement at a low level (between 57.93 ± 10.72 and 61.60 ± 8.18 $\mu\text{mol/l}$) in the case of the urea there is, in the solids-only phase (14 to 24 weeks), a continual rise in concentration (+70.7% until the 14th week of life) followed by a sideways movement. The development of the concentration of glucose and insulin in the plasma of the blood are strikingly similar. Whereas the decline in the concentration of glucose (-28.7 %) during weaning reflects the dietary change (from the resorptive to the gluconeogenic availability), the development of the concentration of insulin (-71.0 %) obviously follows the changing of the blood glucose. Interestingly, the concentration of glucose rises again towards the 24th week (+24.5 %), i.e. within the solids-only phase. The concentration of insulin also rises again (+34.0 %). The age-dependent concentration developments of hippuric acid and β -hydroxybutyrate in the plasma of the blood demonstrate particularly striking the digestive and resorptive changes and alterations which take place during the conversion from milk to solid feed in the developing forestomach system. Whereas this increase of β -hydroxybutyrate which is mainly caused by the rumen (production of β -hydroxybutyrate from butyrate in the rumen epithelium) only becomes significant at the 14th week of life and stays plateau-like stable until the 24th week of life, the rise of the hippuric acid is already significant at 10th week of life. Subsequent to another rise at the 14th week of life (+ 140.1 %) the concentration of hippuric acid stabilises until the 24th week of life. Although both parameters, despite the continuing development of the forestomach system, show a plateau of concentration between the 14th and the 24th weeks of life, the dynamics of the concentration development of hippuric acid and β -hydroxybutyrate in the weeks before are able to demonstrate the changes in the feeding situation and the resultant forestomach development. The results are discussed against the background of real-life trial conditions integrating already published findings.

8 LITERATURVERZEICHNIS

ABOUZITE, M., ALDAKER, M. B., FELLAT, S., SAHIBI, H. & BADDOURI, K. (1997).
Développement post-natal du pouvoir de concentration rénal, du système rénine-
angiotensine et des hormones cortico-surréaliennes chez le veau.
Reproduction Nutrition Development 37: 285-292.

AHRÉN, B., WIERUP, N. & SUNDLER, F. (2006).
Neuropeptides and the Regulation of Islet Function.
Diabetes 55(Supplement 2): 98-107.

AL-KHALIDI, U. A. & CHAGLIASSIAN, T. H. (1965).
The species distribution of xanthine oxidase.
Biochemical Journal 97: 318-320.

AMURO, Y., NAKAOKA, H., SHIMOMURA, S., TAMURA, S., HADA, T. &
HIGASHINO, K. (1988).
Rapid high-performance liquid chromatography for pseudouridine assay in serum
and urine.
Clinica Chimica Acta 172: 117-122.

ANTONIEWICZ, A. M., HEINEMANN, W. W. & HANKS, E. M. (1979).
Factors affecting allantoin excretion in sheep urine.
Annales de Recherches Vétérinaires 10: 300-302.

ARIAS, J. L., CABRERA, R. & VALENCIA, A. (1978).
Observations on the Histological Development of the Bovine Rumen Papillae
Morphological Changes Due to Age^{1,2}.
Anatomia, Histologia, Embryologia 7: 140-151.

ARUI, S. (1993).
Über den Einfluß des Pansenstoffwechsels auf zyklische N-Verbindungen im
Blutplasma von Wiederkäuern. Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie.
Dissertation.
Ludwig-Maximilians-Universität München.

BACON, J. S. D., GORDON, A. H., MORRIS, E. J. & FARMER, V. C. (1975).
Acetyl Groups in Cell-Wall Preparations from Higher Plants.
Biochemical Journal 149: 485-487.

BALDWIN, R. L. V. & JESSE, B. W. (1992).
Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep
ruminal cells.
The Journal of Nutrition 122: 1149-1153.

BALSLIEMKE, J. (1992).
Untersuchungen über die Quantifizierung der ruminalen Purinsynthese bei Ochsen.
Dissertation.
Ludwig-Maximilians-Universität München.

- BALZER, I., HÖCKER, B., KAPP, H. & BARTOLOMAEUS, B. (2000).
Occurrence and comparative physiology of melatonin in evolutionary diverse organisms.
In: T. Driessche, J.-L. Guisset, G. Petiau-de Vries (Ed.), *The Redox State and Circadian Rhythms*.
Springer Netherlands: 95-119.
- BARRENETXE, J., DELAGRANGE, P. & MARTINEZ, J. A. (2004).
Physiological and metabolic functions of melatonin.
Journal of Physiology and Biochemistry 60: 61-72.
- BECK, U. (1982).
Der ketogene Effekt der Glucose: ein Beitrag zur ruminalen Ketogenese.
Dissertation.
Ludwig-Maximilians-Universität München.
- BELIVEAU, G. P. & BRUSILOW, S. W. (1987).
Glycine availability limits maximum hippurate synthesis in growing rats.
Journal of Nutrition 117: 36-41.
- BICKEL-BAUMANN, C. & LANDIS, J. (1986).
Allantoinausscheidung im Harn und Gesamtstickstoffausscheidung im Kot als Indikatoren für die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen des Wiederkäuers.
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 56: 275-281.
- BIRKLE, J. (1999).
Untersuchungen zur bovinen tageszeitabhängigen Melatoninrhythmik.
Dissertation.
Ludwig-Maximilians-Universität München.
- BREVES, G. & LEONARD-MAREK, S. (2010).
Verdauungsvorgänge in den Vormägen.
In: W. v. Engelhardt (Hrsg), *Physiologie der Haustiere*.
Enke Verlag, Stuttgart. 3: 380-389.
- BRICKELL, J. S., MCGOWAN, M. M. & WATHES, D. C. (2009).
Effect of management factors and blood metabolites during the rearing period on growth in dairy heifers on UK farms.
Domestic Animal Endocrinology 36: 67-81.
- BRISTOW, A. W., WHITEHEAD, D. C. & COCKBURN, J. E. (1992).
Nitrogenous constituents in the urine of cattle, sheep and goats.
Journal of the Science of Food and Agriculture 59: 387-394.
- BROWN, G. M. (1994).
Light, Melatonin and the sleep-wake cycle.
Journal of Psychiatry and Neuroscience 19: 345-353.
- BUBENIK, G. (2002).
Gastrointestinal Melatonin: Localization, Function, and Clinical Relevance.
Digestive Diseases and Sciences 47: 2336-2348.

- BUSH, R. S. (1988).
Effect of age and diet on in vitro metabolism in rumen epithelium from Holstein calves.
Canadian journal of animal science 68: 1245-1251.
- CHARETTE, M. & GRAY, M. W. (2000).
Pseudouridine in RNA: What, Where, How, and Why.
IUBMB Life 49: 341-351.
- CHEN, G., HUO, Y., TAN, D. X., LIANG, Z., ZHANG, W. & ZHANG, Y. (2003).
Melatonin in Chinese medicinal herbs.
Life Sciences 73: 19-26.
- CHEN, X. B., KYLE, D. J., ORSKOV, E. R. & HOVELL, F. D. D. (1991).
Renal clearance of plasma allantoin in sheep.
Experimental Physiology 76: 59-65.
- CHEN, X. B. & ORSKOV, E. R. (2003).
Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: Past, present and future.
International Feed Resources Unit, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen, UK.
- CHEN, X. B., ORSKOV, E. R. & HOVELL, F. D. D. (1990).
Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep.
British Journal of Nutrition 63: 121-129.
- CHURCH, D. C. (1969).
Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants.
O.S.U. Book Stores, Inc., Corvallis, Oregon.
- CLAUSTRAT, B., BRUN, J. & CHAZOT, G. (2005).
The basic physiology and pathophysiology of melatonin.
Sleep Medicine Reviews 9: 11-24.
- COLONNA, A., RUSSO, T., ESPOSITO, F., SALVATORE, F. & CIMINO, F. (1983).
Determination of pseudouridine and other nucleosides in human blood serum by high-performance liquid chromatography.
Analytical Biochemistry 130: 19-26.
- DAVIS, C. & DRACKLEY, J. (1998).
The Development, Nutrition, and Management of the Young Calf.
Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- DIRKSEN, G. (1981).
Indigestionen beim Rind.
Schnetztor-Verlag, Konstanz.
- DIRKSEN, G., LIEBICH, H. G., BROSI, G., HAGEMEISTER, H. & MAYER, E. (1984).
Morphologie der Pansenschleimhaut und Fettsäureresorption beim Rind — bedeutende Faktoren für Gesundheit und Leistung.
Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A 31: 414-430.

DÖRMANN, P. & BENNING, C. (2002).
Galactolipids rule in seed plants.
Trends in Plant Science 7: 112-118.

Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch. (1998)
258. Auflage, bearbeitet von der Wörterbuch-Redaktion des Verlages unter der
Leitung von Helmut Hildebrandt.
de Gruyter, Berlin.

DUBBELS, R., REITER, R. J., KLENKE, E., GOEBEL, A., SCHNAKENBERG, E.,
EHLERS, C., SCHIWARA, H. W. & SCHLOOT, W. (1995).
Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance
liquid chromatography-mass spectrometry.
Journal of Pineal Research 18: 28-31.

EGLI, C. P. & BLUM, J. W. (1998).
Clinical, Haematological, Metabolic and Endocrine Traits During the First Three
Months of Life of Suckling Simmentaler Calves Held in a Cow-Calf Operation.
Journal of Veterinary Medicine Series A 45: 99.

EMMANUEL, B., STANGASSINGER, M. & GIESECKE, D. (1982).
Production of D(-)-3-Hydroxybutyrate by an alternate mechanism in rumen epithelium
of ovine (*ovis aries*), and bovine (*bos taurus*).
Comparative Biochemistry and Physiology 72B: 415-419.

ERIKSSON, L., VALTONEN, M., LAITINEN, J. T., PAANANEN, M. & KAIKKONEN,
M. (1998).
Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: pharmacokinetics of exogenous
melatonin in lactating cows and goats.
Acta veterinaria Scandinavica 39: 301-310.

FERGUSON, W. S. & TERRY, R. A. (1954).
The fractionation of the non-protein nitrogen of grassland herbage.
Journal of the Science of Food and Agriculture 5: 515-524.

FLATT, W. P., WARNER, R. G. & LOOSLI, J. K. (1958).
Influence of Purified Materials on the Development of the Ruminant Stomach.
Journal of Dairy Science 41: 1593-1600.

FUHRMANN, H. & SALLMANN, H.-P. (2010).
Physiologische Aspekte der Leberfunktion.
In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.
Enke Verlag, Stuttgart. 3: 451-464.

FUNABA, M., KAGIYAMA, K., IRIKI, T. & ABE, M. (1995).
Post-weaning excretion of purine derivatives by young calves.
Canadian Journal of Animal Science 75: 153-156.

GALLWITZ, B. (2011).
Gemeinsamkeiten und Unterschiede inkretinbasierter Therapien.
Der Diabetologe 7: 301-307.

GASSMANN, M. & LUTZ, T. A. (2010).

Flüssige Bestandteile des Blutes.

In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 3: 197-202.

GIESECKE, D., BECK, U., WIESMAYR, S. & STANGASSINGER, M. (1979).

The effect of rumen epithelial development on metabolic activities and ketogenesis by the tissue in vitro.

Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry 62: 459-463.

GIESECKE, D., EHRENTREICH, L. & STANGASSINGER, M. (1994).

Mammary and Renal Excretion of Purine Metabolites in Relation to Energy Intake and Milk Yield in Dairy Cows.

Journal of Dairy Science 77: 2376-2381.

GIESECKE, D., STANGASSINGER, M. & TIEMEYER, W. (1984).

Nucleic acid digestion and urinary purine metabolites in sheep nourished by intragastric infusions.

Canadian Journal of Animal Science 64: 144-145.

GROSJEAN, H. (2005).

Modification and editing of RNA: historical overview and important facts to remember.

Topics in current genetics 12: 1-22.

GUILLOTEAU, P., LE HUEROU-LURON, I. & TOULLEC, R. (1995).

Regulatory Peptides in Young Ruminants.

In: W. v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, D. Giesecke (Ed), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction.

Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

GUNDELACH, Y. (2005).

Einfluß des postpartalen Drenchens mit Kalziumpropionat auf die Stoffwechselfgesundheit, Milchleistung, Fertilität und Allgemeingesundheit bei hochleistenden Milchkühen.

Dissertation.

Tierärztliche Hochschule Hannover.

HAMMOND, A. C. (1997).

Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. Proc. Florida Rumin. Nutr. Symp., Univ. of Florida, Gainesville: 43-52.

HARDELAND, R. (2005).

Melatonin, eine ubiquitäre Substanz. Vorkommen, Wirkungen und Metabolismus außerhalb seiner klassischen Rolle.

Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig, Math-Nat Kl., Bd 63, Heft 2 "Endokrinologie II", E. Peschke, ed Verl Sächs Akad Wiss/Hirzel, Stuttgart-Leipzig, 75-106.

HARDELAND, R. (2006).

Melatonin - Nachthormon, pleiotroper Regulator und protektives Agens.
Vortrag in der Klasse für Naturwissenschaften am 14. September 2006,
Sitzungsberichte der Leibniz-Sozietät 87, 5–16.

HARDELAND, R. & POEGGELER, B. (2003).

Non-vertebrate melatonin.
Journal of Pineal Research 34: 233-241.

HARRISON, D. G. & MCALLAN, A. B. (1980).

Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen.
In: Y. Ruckebusch, P. Thivend (ed), Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants.
MTP Press Limited, Lancaster: 205-226.

HARRISON, H. N., WARNER, R. G., SANDER, E. G. & LOOSLI, J. K. (1960).

Changes in the tissue and volume of the stomachs of calves following the removal of dry feed or consumption of inert bulk.
Journal of Dairy Science 43: 1301-1312.

HARTLEY, R. D. & JONES, E. C. (1978).

Phenolic components and degradability of the cell walls of the brown midrib mutant, bm3, of Zea mays.
Journal of the Science of Food and Agriculture 29: 777-782.

HATTORI, A., MIGITAKA, H., IIGO, M., ITOH, M., YAMAMOTO, K., OHTANI-KANEKO, R., HARA, M., SUZUKI, T. & REITER, R. J. (1995).

Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates.
Biochemistry and molecular biology international 35: 627-634.

HEDLUND, L., LISCHKO, M. M., ROLLAG, M. D. & NISWENDER, G. D. (1977).

Melatonin: daily cycle in plasma and cerebrospinal fluid of calves.
Science 195(4279): 686-687.

HERNÁNDEZ-RUIZ, J., CANO, A. & ARNAO, M. B. (2005).

Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species.
Journal of Pineal Research 39(2): 137-142.

HIRD, F. J. R. & WEIDEMANN, M. J. (1964).

Ketone-Body Synthesis in Relation to Age of Lambs.
Biochemical Journal 93: 423-430.

HORINO, M., MACHLIN, L. J., HERTELENDY, F. & KIPNIS, D. M. (1968).

Effect of Short-Chain Fatty Acids on Plasma Insulin in Ruminant and Nonruminant Species.
Endocrinology 83: 118-128.

HORN, F. (2009).

Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium.
G. Thieme, Stuttgart.

- HOSTETTLER-ALLEN, R. L., TAPPY, L. & BLUM, J. W. (1994).
Insulin resistance, hyperglycemia, and glucosuria in intensively milk-fed calves.
Journal of Animal Science 72: 160-173.
- HOWARTH, R. E., BALDWIN, R. L. & RONNING, M. (1968).
Enzyme Activities in Liver, Muscle, and Adipose Tissue of Calves and Steers.
Journal of Dairy Science 51: 1270-1274.
- HUBER, J. T. (1969).
Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf.
Journal of Dairy Science 52: 1303-1315.
- HUGI, D. & BLUM, J. W. (1997).
Changes of blood metabolites and hormones in breeding calves associated with weaning.
Zentralblatt für Veterinärmedizin A 44: 99-108.
- HUGI, D., BRUCKMAIER, R. M. & BLUM, J. W. (1997).
Insulin resistance, hyperglycemia, glucosuria, and galactosuria in intensively milk-fed calves: dependency on age and effects of high lactose intake.
Journal of Animal Science 75: 469-482.
- JABLONKA, C. (1996).
Untersuchungen zur diätetischen Bedeutung und zu den physiologischen Auswirkungen unterschiedlich hoher Hippursäureausscheidungen beim Rind.
Dissertation.
Ludwig-Maximilians-Universität München.
- JACKSON, M. G. (1977).
Review article: The alkali treatment of straws.
Animal Feed Science and Technology 2: 105-130.
- JÄGER, E. J., NEUMANN, S. & OHMANN, E. (2003).
Botanik.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- JESSE, B. W., WANG, L.-Q. & BALDWIN, R. L. (1995).
Genetic Regulation of Postnatal Sheep Rumen Metabolic Development.
In: W. v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, D. Giesecke (ed), *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*.
Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- JOUAN, P.-N., POULIOT, Y., GAUTHIER, S. F. & LAFOREST, J.-P. (2006).
Hormones in bovine milk and milk products: A survey.
International Dairy Journal 16: 1408-1414.
- JUNG, H.-J. G., FAHEY, G. C. & MERCHEN, N. R. (1983).
Effects of ruminant digestion and metabolism on phenolic monomers of forages.
British Journal of Nutrition 50: 637-651.

- JUNG, H. G. & FAHEY, G. C. (1983).
Nutritional Implications of Phenolic Monomers and Lignin: a Review.
Journal of Animal Science 57: 206-219.
- KAHN, L. P. & NOLAN, J. V. (2000).
Kinetics of allantoin metabolism in sheep.
British Journal of Nutrition 84: 629-634.
- KALM, E. (2003).
Abschlussbericht: Weiterentwicklung der Leistungsprüfungen beim Milchrind.
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Tierzucht und Tierhaltung, Kiel.
- KAMPHUES, J., COENEN, M., KIENZLE, E., PALLAUF, M., SIMON, O. & ZENTEK, J. (2004).
Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung.
Schaper, Alfeld (Leine).
- KAPLAN, A. & POBIRSKY, N. N. (1974).
Specificity of purinic metabolism in ruminants.
Sel'skokhozaist vernnaye Biologiya 9: 91-94.
- LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK (2013)
Normwerte Hund, Katze, Pferd, Rind.
Abgerufen am 04.01.13
http://www.laboklin.de/pages/html/de/leistungsspektrum/referenzwerte/referenzwert_hdktz.htm
- KHAN, M. A., LEE, H. J., LEE, W. S., KIM, H. S., KI, K. S., HUR, T. Y., SUH, G. H., KANG, S. J. & CHOI, Y. J. (2007a).
Structural Growth, Rumen Development, and Metabolic and Immune Responses of Holstein Male Calves Fed Milk Through Step-Down and Conventional Methods.
Journal of Dairy Science 90: 3376-3387.
- KHAN, M. A., LEE, H. J., LEE, W. S., KIM, H. S., KIM, S. B., KI, K. S., HA, J. K., LEE, H. G. & CHOI, Y. J. (2007b).
Pre- and Postweaning Performance of Holstein Female Calves Fed Milk Through Step-Down and Conventional Methods.
Journal of Dairy Science 90: 876-885.
- KHAN, M. A., LEE, H. J., LEE, W. S., KIM, H. S., KIM, S. B., KI, K. S., PARK, S. J., HA, J. K. & CHOI, Y. J. (2007c).
Starch Source Evaluation in Calf Starter: I. Feed Consumption, Body Weight Gain, Structural Growth, and Blood Metabolites in Holstein Calves.
Journal of Dairy Science 90: 5259-5268.
- KIRCHGEßNER, M., ROTH, F. X., SCHWARZ, F. J. & STANGL, G. I. (2008).
Tierernährung: Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis.
DLG-Verlag, Frankfurt.

- KLEE, W., SEITZ, A. & ELMER-ENGLHARD, D. (1985).
Untersuchungen über den Kreatinin- und Harnstoff-Blutspiegel gesunder neugeborener Kälber im Hinblick auf deren Nierenfunktion.
Deutsche tierärztliche Wochenschrift 92: 405-407.
- KLOTZ, J. L. & HEITMANN, R. N. (2006).
Effects of weaning and ionophore supplementation on selected blood metabolites and growth in dairy calves.
Journal of Dairy Science 89: 3587-3598.
- KNOWLES, T. G., EDWARDS, J. E., BAZELEY, K. J., BROWN, S. N., BUTTERWORTH, A. & WARRISS, P. D. (2000).
Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age.
Veterinary Record 147: 593-598.
- KÖHIDAI, L., VAKKURI, O., KERESZTESI, M., LEPPÄLUOTO, J. & CSABA, G. (2002).
Melatonin in the unicellular *Tetrahymena pyriformis*: effects of different lighting conditions.
Cell Biochemistry and Function 20: 269-272.
- LAKE, S. L., SCHOLLJEGERDES, E. J., HALLFORD, D. M., MOSS, G. E., RULE, D. C. & HESS, B. W. (2006).
Effects of body condition score at parturition and postpartum supplemental fat on metabolite and hormone concentrations of beef cows and their suckling calves.
Journal of Animal Science 84: 1038-1047.
- LENG, R. A. & WEST, C. E. (1969).
Contribution of acetate, butyrate, palmitate, stearate and oleate to ketone body synthesis in sheep.
Research in Veterinary Science 10: 57-63.
- LERNER, A. B., CASE, J. D., TAKAHASHI, Y., LEE, T. H. & MORI, W. (1958).
Isolation of Melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes.
Journal of the American Chemical Society 80: 2587-2587.
- LIEBICH, H.-G. (2004).
Verdauungsapparat (Apparatus digestorius).
In: H.-G. Liebich (Hrsg), Funktionelle Histologie der Haussäugetiere.
Schattauer GmbH, Stuttgart: 187-236.
- LÖFFLER, G., PETRIDES, P. E. & HEINRICH, P. C. (2007).
Biochemie & Pathobiochemie.
Springer, Heidelberg.

LOHAKARE, J. D., VAN DE SAND, H., GERLACH, K., HOSSEINI, A., MIELENZ, M., SAUERWEIN, H., PRIES, M. & SUDEKUM, K. H. (2012).

Effects of limited concentrate feeding on growth and blood and serum variables, and on nutrient digestibility and gene expression of hepatic gluconeogenic enzymes in dairy calves.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl) 96: 25-36.

LUMSDEN, J. H., MULLEN, K. & ROWE, R. (1980).

Hematology and biochemistry reference values for female Holstein cattle.

Canadian Journal of Comparative Medicine 44: 24-31.

MANCHESTER, L. C., POEGGELER, B., ALVARES, F. L., OGDEN, G. B. & REITER, R. J. (1995).

Melatonin immunoreactivity in the photosynthetic prokaryote *Rhodospirillum rubrum*: implications for an ancient antioxidant system.

Cellular & Molecular Biology Research 41: 391-395.

MARTENS, H. (2010a).

Entwicklung der Vormägen.

In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 3: 379-380.

MARTENS, H. (2010b).

Resorptionsvorgänge.

In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.

Enke Verlag, Stuttgart. 3: 389-399.

MARTIN, A. K. (1969).

The urinary excretion of aromatic acids by starved sheep.

British Journal of Nutrition 23: 715-725.

MARTIN, A. K. (1973).

Urinary aromatic acid excretion by fed and fasted sheep in relation to protein metabolism in the rumen.

British Journal of Nutrition 30: 251-267.

MCALLAN, A. B. (1980).

The degradation of nucleic acids in, and the removal of breakdown products from the small intestines of steers.

British Journal of Nutrition 44: 99-112.

MCALLAN, A. B. (1982).

The fate of nucleic acids in ruminants.

Proceedings of the Nutrition Society 41: 309-316.

MCDONALD, I. W. & WARNER, A. C. I. (1974).

Digestion and metabolism in the ruminant.

Proceedings of the 4th International Symposium on Ruminant Physiology, Sydney, Australia.

University of New England Publishing Unit, Armidale, N.S.W. .

- MORRIS, E. J. & BACON, J. S. D. (1977).
The fate of acetyl groups and sugar components during the digestion of grass cell walls in sheep.
The Journal of Agricultural Science 89: 327-340.
- MOTLIVA, V., CABEZA, J. & ALARCÓN DE LA LASTRA, C. (2001).
New Issues About Melatonin and its Effects on the Digestive System.
Current Pharmaceutical Design 7: 909-931.
- NICKEL, R., SCHUMMER, A. & SEIFERLE, E. (2004).
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.
Parey Verlag, Stuttgart.
- PAGELLA, J. H., CHEN, X. B., MACLEOD, N. A., ØRSKOV, E. R. & DEWEY, P. J. S. (1997).
Excretion of benzoic acid derivatives in urine of sheep given intraruminal infusions of 3-phenylpropionic and cyclohexanecarboxylic acids.
British Journal of Nutrition 77: 577-592.
- PANDI-PERUMAL, S. R., SRINIVASAN, V., MAESTRONI, G. J. M., CARDINALI, D. P., POEGGELER, B. & HARDELAND, R. (2006).
Melatonin. Nature's most versatile biological signal?
Federation of European Biochemical Societies Journal 273: 2813-2838.
- PAREDES, S. D., KORKMAZ, A., MANCHESTER, L. C., TAN, D.-X. & REITER, R. J. (2009).
Phytomelatonin: a review.
Journal of Experimental Botany 60: 57-69.
- PICCIONE, G., CASELLA, S., PENNISI, P., GIANNETTO, C., COSTA, A. & CAOLA, G. (2010).
Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves.
Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 62: 1-12.
- POEGGELER, B. & HARDELAND, R. (1994).
Detection and quantification of melatonin in a dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*: Solutions to the problem of methoxyindole destruction in non-vertebrate material.
Journal of Pineal Research 17: 1-10.
- PRASITKUSOL, P., ØRSKOV, E. R., CHEN, X. B., HOVELL, F. D. D. & KYLE, D. J. (2002).
Variation between sheep in renal excretion of [¹⁴C]allantoin.
British Journal of Nutrition 87: 561-568.
- PUCHALA, R., SHELFORD, J. A., BAREJ, W., KULASEK, G. W., PIOR, H., VON KEYSERLINGK, M. & MAKONI, N. (1993).
Urinary excretion of pseudouridine and purine metabolites in ruminants.
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 69: 186-193.

PUCHALA, R., SHELFORD, J. A., KULASEK, G. W. & BAREJ, W. (1991).
Pseudouridine - marker for endogenous nucleic acid and protein metabolism in ruminants.
6th International symposium, Protein metabolism and nutrition. E. A. f. A. P. N. Commission.
National Institute of Animal Science. 59//v2: 173-174.

QUIGLEY, J. (2001).
Rumen bacteria in calves. Calf notes (05).
Abgerufen am 24.08.12
<http://www.calfnotes.com/pdf/CN005.pdf>

QUIGLEY, J. D., CALDWELL, L. A., SINKS, G. D. & HEITMANN, R. N. (1991).
Changes in Blood Glucose, Nonesterified Fatty Acids, and Ketones in Response to Weaning and Feed Intake in Young Calves.
Journal of Dairy Science 74: 250-257.

REECE, J. B., CAIN, M. L. & URRY, L. A. (2010).
Campbell Biology.
Pearson Benjamin Cummings.

REITER, R. J. (1993).
The melatonin rhythm: both a clock and a calendar.
Cellular and Molecular Life Sciences 49: 654-664.

REITER, R. J., TAN, D. X., BURKHARDT, S. & MANCHESTER, L. C. (2001).
Melatonin in Plants.
Nutrition Reviews 59: 286-290.

REYNOLDS, W. L., DEROUEN, T. M., MOIN, S. & KOONCE, K. L. (1980).
Factors influencing gestation length, birth weight and calf survival of Angus, Zebu and Zebu cross beef cattle.
Journal of Animal Science 51: 860-867.

ROSSKOPF, R., RAINER, H. & GIESECKE, D. (1991).
Purin- und Pyrimidinmetaboliten zur Beurteilung des Pansenstoffwechsels: HPLC-Analysen in Milch und Blutplasma.
Archiv für Tierernährung 41: 411-426.

SAMBRAUS, H. H. (2001).
Atlas der Nutztierassen.
Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart.

SANDER, G., TOPP, H., HELLER-SCHOCH, G., WIELAND, J. & SCHOCH, G. (1986).
Ribonucleic acid turnover in man:RNA catabolites in urine as measure for the metabolism of each of the three major species of RNA.
Clinical Science 71: 367-374.

SCHNORR, B. & KRESSIN, M. (2011).
Embryologie der Haustiere
Enke, Stuttgart.

SCHÖCH, G., HELLER-SCHÖCH, G., MÜLLER, J., HEDDRICH, M. & GRÜTTNER, R. (1982).

Determination of RNA-metabolism as indicator of nutritional status.
Klinische Pädiatrie 194: 317-319.

SCHRAG, L. & SINGER, H. (1987).

Das Buch vom Kalb: Die wichtigsten Krankheiten in den ersten Lebenswochen - Vorbeuge und Behandlung unter Einbeziehung der Physiologie von Geburt, Ernährung und Atmung.
Schober Verlags-GmbH, Hengersberg.

ŞENER, G., ŞEHIRLI, A. Ö. & AYANOĞLU-DÜLGER, G. (2003).

Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study.
Journal of Pineal Research 35: 61-68.

SMITH, M. M. & HARTLEY, R. D. (1983).

Occurrence and nature of ferulic acid substitution of cell-wall polysaccharides in graminaceous plants.
Carbohydrate Research 118: 65-80.

SMITH, R. H. & MCALLAN, A. B. (1970).

Nucleic acid metabolism in the ruminant.
British Journal of Nutrition 24: 545-556.

STANGASSINGER, M. (2003).

Beurteilung und Aussagekraft der Untersuchung von Blutparametern zur Erkennung von Fütterungsfehlern.
30. Viehwirtschaftliche Fachtagung, Bericht BAL Gumpenstein.

STANGASSINGER, M. (2010).

Regulation der Glucosehomöostase bei Monogastriern und bei Wiederkäuern.
In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.
Enke Verlag, Stuttgart: 631-647.

STANGASSINGER, M., BECK, U. & EMMANUEL, B. (1979).

Is glucose ketogenic in rumen epithelium?
Annales de Recherches Veterinaires 10: 413-416.

STANGASSINGER, M., CHEN, X. B., LINDBERG, J. E. & GIESECKE, D. (1995).

Metabolism of Purines in Relation to Microbial Production.
In: W. v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, D. Giesecke (eds), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction.
Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

STANGASSINGER, M. & GIESECKE, D. (1986).

Splanchnic metabolism of glucose and related energy substrates.
In: L. P. Milligan, W. L. Grovum, A. Dobson (eds), Control of Digestion and Metabolism in Ruminants.
Proceedings of the Sixth International Symposium on Ruminant Physiology
A Reston Book, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey

STANISIEWSKI, E. P., CHAPIN, L. T., AMES, N. K., ZINN, S. A. & TUCKER, H. A. (1988).

Melatonin and prolactin concentrations in blood of cattle exposed to 8, 16 or 24 hours of daily light.

Journal of Animal Science 66: 727-734.

STEINHARDT, M. & THIELSCHER, H.-H. (2000).

Wachstum und Entwicklungsqualität von Milchrindkälbern in Gruppenhaltung mit Tränkeautomatenfütterung. Physiologische Variablen und deren Änderungen in spezifischen Altersperioden.

Archiv Tierzucht. Dummerstorf. 43: 27-44.

SÜDEKUM, K.-H. & HASSELMANN, A. (1989).

Ausmass und Ort der Verdauung von Zellwandbestandteilen in Wiederkäuern.

Übersichten zur Tierernährung 17: 191-227.

SUTTON, J. D., MCGILLIARD, A. D., RICHARD, M. & JACOBSON, N. L. (1963).

Functional Development of Rumen Mucosa. II. Metabolic Activity.

Journal of Dairy Science 46: 530-537.

TAMATE, H., GETTY, R., MCGILLIARD, A. D. & JACOBSON, N. L. (1962).

Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf.

Journal of Dairy Science 45: 408.

TAN, D.-X., MANCHESTER, L. C., HARDELAND, R., LOPEZ-BURILLO, S., MAYO, J. C., SAINZ, R. M. & REITER, R. J. (2003).

Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin.

Journal of Pineal Research 34: 75-78.

TAN, D.-X., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J., PLUMMER, B. F., HARDIES, L. J., WEINTRAUB, S. T., VIJAYALAXMI & SHEPHERD, A. M. M. (1998).

A Novel Melatonin Metabolite, Cyclic 3-Hydroxymelatonin: A Biomarker of *in Vivo* Hydroxyl Radical Generation.

Biochemical and Biophysical Research Communications 253: 614-620.

THIVEND, P., TOULLEC, R. & GUILLLOTEAU, P. (1979).

Digestive adaption in the preruminant.

In: Y. Ruckebusch, P. Thivend (ed), Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants.

MTP Press Limited, Lancaster: 205-226.

TIEMEYER, W., STOHRER, M. & GIESECKE, D. (1984).

Metabolites of Nucleic Acids in Bovine Milk.

Journal of Dairy Science 67: 723-728.

TOPPS, J. H. & ELLIOTT, R. C. (1965).

Relationship between Concentrations of Ruminal Nucleic Acids and Excretion of Purine Derivatives by Sheep.

Nature 205: 498-499.

- TRICOIRE, H., LOCATELLI, A., CHEMINEAU, P. & MALPAUX, B. (2002).
Melatonin Enters the Cerebrospinal Fluid through the Pineal Recess.
Endocrinology 143: 84-90.
- VALTONEN, M., KANGAS, A. P., VOUTILAINEN, M. & ERIKSSON, L. (2003).
Diurnal rhythm of melatonin in young calves and intake of melatonin in milk.
Animal science (Penicuik, Scotland) 77: 149-154.
- VAZQUEZ-ANON, M., HEINRICHS, A. J., ALDRICH, J. M. & VARGA, G. A. (1993).
Postweaning Age Effects on Rumen Fermentation End-Products and Digesta
Kinetics in Calves Weaned at 5 Weeks of Age.
Journal of Dairy Science 76: 2742-2748.
- WARNER, R. G. (1961).
Is hay required to develop rumen capacity?
Journal of Dairy Science 44: 1177.
- WARNER, R. G., FLATT, W. P. & LOOSLI, J. K. (1956).
Dietary Factors Influencing Development of Ruminant Stomach.
Journal of Agricultural and Food Chemistry 4: 788-792.
- WEILER, E. & NOVER, L. (2008).
Allgemeine und molekulare Botanik.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- WEISS, D. J. & WARDROP, K. J. (2011).
Schalm's Veterinary Hematology.
John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ
- WILLIAMS, L. M., LINCOLN, G. A. & MORGAN, P. J. (1995).
Melatonin: Sites and Mode of Action in the Sheep.
In: W. v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, D. Giesecke (eds), Ruminant
Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction.
Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- WINTERS, L. M., GREEN, W. W. & COMSTOCK, R. E. (1942).
Prenatal development of the bovine.
Agricultural experiment station, Technical bulletin 151
University of Minnesota, Minneapolis
- WÖHR, A.-C., BIRKLE, J., UNSHELM, J. & ERHARD, M. H. (2004).
The rhythm of melatonin in cattle milk and the possible role of "night milk" as
"functional food".
Proceedings - Society of Nutrition Physiology
DLG-Verlag, Frankfurt, M., S. 114
- WOLFFRAM, S. & SCHARRER, E. (2010).
Funktionen des Dünndarms und seiner Anhangsdrüsen.
In: W. v. Engelhardt (Hrsg), Physiologie der Haustiere.
Enke Verlag, Stuttgart. 3: 405-432.

YU, Y. M., YANG, R. D., MATTHEWS, D. E., WEN, Z. M., BURKE, J. F., BIER, D. M. & YOUNG, V. R. (1985).
Quantitative aspects of glycine and alanine nitrogen metabolism in postabsorptive young men: effects of level of nitrogen and dispensable amino acid intake.
Journal of Nutrition 115: 399-410.

9 TABELLENANHANG

Tabelle 4.1.1.A: Körpergewicht (kg) der Kälber

Kalb	Alter (Wochen)		
	0 (Geburt)	14	24
47466	40	86	156
47471	35	96	164
47475	40	100	190
47477	40	124	227
42602	44	120	189
42604	48	116	202
42609	35	112	183
42611	40	81	154
42614	35	97	172
42626	40	87	159
42629	35	97	161
42632	35	101	176
42635	40	95	142
42636	40	123	198
42638	40	113	175
42639	42	117	196

Tabelle 4.2.1.A: Altersabhängige Allantoinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
1	42619	128,60
	42629	315,32
	42632	410,46
	42635	452,04
	42636	248,61
	42638	409,62
	42639	383,97
	42867	157,19
	42868	341,41
	42870	252,00
	42878	274,84
	70813	199,25
	70815	319,02
	70817	261,81
	70820	86,11

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
2	42626	168,09
	42629	298,96
	42632	183,93
	42635	247,96
	42636	234,52
	42638	233,75
	42639	154,41
	42867	162,42
	42869	112,65
	42870	125,35
	70813	167,18
	70815	238,38
	70817	182,42
	70820	137,19
	70823	148,55

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
6	42610	187,98
	42619	169,37
	42621	273,28
	42623	154,93
	42624	207,98
	42625	181,07
	42626	164,41
	42629	202,46
	42632	194,98
	42635	147,27
	42636	135,08
	42638	136,04
	42639	181,32
	42867	111,10
	70813	180,78

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
10	42602	144,41
	42604	185,96
	42609	243,82
	42611	203,47
	42621	184,47
	42623	119,42
	42624	131,36
	42626	133,31
	42629	220,83
	42632	151,25
	42635	171,89
	42636	168,81
	42638	222,07
	42639	144,12
	70813	146,71

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
14	47466	125,14
	47471	119,74
	47475	149,37
	42602	165,20
	42604	171,31
	42609	156,21
	42611	133,66
	42614	156,40
	42626	120,18
	42629	161,26
	42632	191,25
	42635	201,73
	42636	355,92
	42638	437,75
	42639	506,38

Alter (Wochen)	Kalb	Allantoin ($\mu\text{mol/l}$)
24	47466	216,64
	47471	144,91
	47475	165,47
	42602	191,11
	42604	233,00
	42609	234,47
	42611	206,96
	42614	123,83
	42626	204,80
	42629	252,03
	42632	322,49
	42635	287,30
	42636	217,28
	42638	190,87
	42639	230,63

Tabelle 4.2.2.1.A: Altersabhängige Hippursäurekonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure ($\mu\text{mol/l}$)
1	42619	0,00
	42629	0,00
	42632	0,00
	42635	0,00
	42636	0,00
	42638	0,00
	42639	0,00
	42867	0,00
	42868	0,00
	42870	0,00
	42878	0,00
	70813	0,00
	70815	0,00
	70817	0,00
	70820	0,00

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure ($\mu\text{mol/l}$)
2	42626	0,00
	42629	0,00
	42632	0,00
	42635	0,00
	42636	0,00
	42638	0,00
	42639	0,00
	42867	0,00
	42869	0,00
	42870	0,00
	70813	0,00
	70815	0,00
	70817	0,00
	70820	0,00
	70823	0,00

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure ($\mu\text{mol/l}$)
6	42610	4,52
	42619	3,04
	42621	5,04
	42623	2,42
	42624	4,02
	42625	12,30
	42626	8,44
	42629	3,23
	42632	11,52
	42635	3,76
	42636	7,87
	42638	5,47
	42639	11,74
	42867	0,00
	70813	4,55

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure ($\mu\text{mol/l}$)
10	42602	26,54
	42604	12,71
	42609	53,33
	42611	39,81
	42621	26,15
	42623	7,10
	42624	10,05
	42626	10,07
	42629	24,37
	42632	22,76
	42635	17,08
	42636	5,57
	42638	48,04
	42639	16,58
	70813	4,74

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure (µmol/l)
14	47466	45,03
	47471	32,34
	47475	61,80
	42602	40,09
	42604	36,23
	42609	69,84
	42611	23,64
	42614	22,35
	42626	48,96
	42629	55,50
	42632	9,65
	42635	73,20
	42636	81,12
	42638	74,77
	42639	113,26

Alter (Wochen)	Kalb	Hippursäure (µmol/l)
24	47466	73,05
	47471	56,82
	47475	78,15
	42602	41,15
	42604	47,60
	42609	62,88
	42611	44,52
	42614	46,54
	42626	41,76
	42629	75,60
	42632	59,82
	42635	33,90
	42636	72,97
	42638	64,08
	42639	50,75

Tabelle 4.2.3.1.A: Altersabhängige Pseudouridinkonzentration (µmol/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
1	42619	10,96
	42629	10,50
	42632	10,30
	42635	10,53
	42636	4,94
	42638	6,86
	42639	4,84
	42867	4,15
	42868	4,87
	42870	4,61
	42878	5,30
	70813	6,34
	70815	8,67
	70817	5,94
	70820	5,16

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
2	42626	1,20
	42629	5,84
	42632	4,79
	42635	3,95
	42636	4,79
	42638	4,96
	42639	3,67
	42867	0,75
	42869	1,02
	42870	2,59
	70813	1,57
	70815	1,64
	70817	3,25
	70820	6,44
	70823	6,58

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
6	42610	3,77
	42619	1,42
	42621	6,42
	42623	3,09
	42624	0,53
	42625	1,95
	42626	1,12
	42629	4,11
	42632	3,18
	42635	1,06
	42636	3,35
	42638	1,14
	42639	2,60
	42867	2,24
	70813	3,43

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
10	42602	2,55
	42604	2,08
	42609	2,69
	42611	2,70
	42621	1,37
	42623	0,79
	42624	1,69
	42626	2,48
	42629	3,87
	42632	1,60
	42635	2,98
	42636	2,59
	42638	3,27
	42639	3,00
	70813	2,84

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
14	47466	3,34
	47471	2,32
	47475	2,66
	42602	3,04
	42604	3,43
	42609	3,71
	42611	3,86
	42614	1,55
	42626	2,34
	42629	2,40
	42632	1,09
	42635	3,42
	42636	2,42
	42638	3,21
	42639	4,29

Alter (Wochen)	Kalb	Pseudouridin (µmol/l)
24	47466	3,93
	47471	1,69
	47475	2,94
	42602	1,71
	42604	2,21
	42609	2,96
	42611	3,12
	42614	2,08
	42626	2,84
	42629	2,79
	42632	1,87
	42635	2,48
	42636	3,03
	42638	3,40
	42639	3,33

Tabelle 4.2.4.A: Altersabhängige Melatoninkonzentration ($\mu\text{g/l}$) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin ($\mu\text{g/l}$)
1	42619	0
	42629	0,1276
	42632	0,0587
	42635	0
	42636	0
	42638	0
	42639	0
	42867	0,0117
	42868	0
	42870	0
	42878	0,0982
	70813	0,1493
	70815	0,1497
	70817	0,0683
	70820	0,1014

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin ($\mu\text{g/l}$)
2	42626	0,0802
	42629	0,0451
	42632	0
	42635	0,0410
	42636	0,1008
	42638	0
	42639	0
	42867	0,0492
	42869	0
	42870	0,1722
	70813	16,7900
	70815	0,1252
	70817	0,2272
	70820	0,3883
	70823	1,0772

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin ($\mu\text{g/l}$)
6	42610	0,3804
	42619	0,3444
	42621	1,2335
	42623	0,2337
	42624	0,2063
	42625	0,2573
	42626	0,0631
	42629	0
	42632	0
	42635	0
	42636	0
	42638	0
	42639	0
	42867	0
	70813	0

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin ($\mu\text{g/l}$)
10	42602	0,1351
	42604	9,6022
	42609	0
	42611	0,1108
	42621	0,1126
	42623	0,5402
	42624	0
	42626	0,1726
	42629	0
	42632	0,2796
	42635	0,1229
	42636	0,4014
	42638	0
	42639	0,3865
	70813	0

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin (µg/l)
14	47466	0,3988
	47471	0
	47475	0,1531
	42602	0
	42604	0
	42609	0,2767
	42611	0
	42614	0
	42626	0,0845
	42629	0,1775
	42632	0,1818
	42635	0,1425
	42636	0
	42638	0,1823
	42639	0

Alter (Wochen)	Kalb	Melatonin (µg/l)
24	47466	0,1104
	47471	0
	47475	0
	42602	0
	42604	0
	42609	0,0544
	42611	0,1009
	42614	0,2451
	42626	0,0941
	42629	0
	42632	0,0769
	42635	0,1751
	42636	0,2887
	42638	0,0639
	42639	0,0653

Tabelle 4.2.5.1.A: Altersabhängige Gesamtproteinkonzentration (g/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
1	42619	51,7
	42629	59,5
	42632	48,8
	42635	54,4
	42636	72,1
	42638	52,9
	42639	56,7
	42867	53,3
	42868	50,2
	42870	60,7
	42878	64,0
	70813	54,9
	70815	58,5
	70817	60,2
	70820	45,0

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
2	42626	47,3
	42629	59,7
	42632	51,2
	42635	53,0
	42636	71,2
	42638	50,3
	42639	58,2
	42867	54,7
	42869	63,1
	42870	56,7
	70813	59,3
	70815	66,4
	70817	57,1
	70820	47,4
	70823	55,9

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
6	42610	63,1
	42619	62,9
	42621	53,8
	42623	57,1
	42624	67,4
	42625	61,6
	42626	57,0
	42629	57,0
	42632	50,8
	42635	56,4
	42636	60,9
	42638	51,1
	42639	55,0
	42867	64,2
	70813	63,2

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
10	42602	67,8
	42604	72,1
	42609	62,7
	42611	76,4
	42621	64,5
	42623	63,5
	42624	77,3
	42626	65,0
	42629	58,4
	42632	56,3
	42635	57,7
	42636	60,3
	42638	56,6
	42639	60,8
	70813	68,7

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
14	47466	80,2
	47471	90,2
	47475	76,7
	42602	73,4
	42604	72,5
	42609	66,1
	42611	78,0
	42614	74,7
	42626	72,3
	42629	80,3
	42632	66,2
	42635	69,9
	42636	69,3
	42638	66,6
	42639	64,2

Alter (Wochen)	Kalb	Gesamtprotein (g/l)
24	47466	78,3
	47471	81,3
	47475	76,2
	42602	75,6
	42604	68,8
	42609	67,7
	42611	72,2
	42614	75,9
	42626	76,2
	42629	73,3
	42632	69,3
	42635	73,2
	42636	68,7
	42638	65,1
	42639	68,0

Tabelle 4.2.6.1.A: Altersabhängige Harnstoffkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
1	42619	4,44
	42629	2,92
	42632	16,67
	42635	5,30
	42636	2,86
	42638	6,34
	42639	5,02
	42867	2,37
	42868	3,97
	42870	1,11
	42878	1,56
	70813	2,70
	70815	2,18
	70817	1,88
	70820	4,90

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
2	42626	3,74
	42629	3,19
	42632	2,82
	42635	1,81
	42636	2,05
	42638	2,12
	42639	1,91
	42867	2,86
	42869	1,64
	42870	1,70
	70813	2,90
	70815	1,00
	70817	2,00
	70820	1,47
	70823	1,43

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
6	42610	1,97
	42619	3,43
	42621	3,32
	42623	2,05
	42624	3,33
	42625	2,06
	42626	1,85
	42629	2,34
	42632	2,30
	42635	2,32
	42636	1,82
	42638	1,32
	42639	1,20
	42867	1,96
	70813	2,04

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
10	42602	2,22
	42604	2,15
	42609	1,79
	42611	2,25
	42621	1,93
	42623	1,76
	42624	2,54
	42626	1,95
	42629	1,71
	42632	1,51
	42635	1,29
	42636	1,35
	42638	1,74
	42639	1,34
	70813	2,07

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
14	47466	4,79
	47471	4,00
	47475	2,48
	42602	1,84
	42604	3,18
	42609	3,31
	42611	4,33
	42614	1,85
	42626	1,99
	42629	1,76
	42632	3,05
	42635	4,50
	42636	3,37
	42638	3,77
42639	2,90	

Alter (Wochen)	Kalb	Harnstoff (mmol/l)
24	47466	3,91
	47471	2,68
	47475	4,24
	42602	2,92
	42604	3,48
	42609	3,97
	42611	3,69
	42614	2,97
	42626	3,53
	42629	4,67
	42632	3,05
	42635	3,94
	42636	2,94
	42638	2,02
42639	1,58	

Tabelle 4.2.7.1.A: Altersabhängige Kreatininkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
1	42619	111
	42629	90
	42632	94
	42635	102
	42636	78
	42638	88
	42639	79
	42867	84
	42868	105
	42870	80
	42878	81
	70813	78
	70815	95
	70817	75
	70820	88

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
2	42626	68
	42629	73
	42632	52
	42635	95
	42636	97
	42638	85
	42639	84
	42867	92
	42869	66
	42870	72
	70813	60
	70815	99
	70817	77
	70820	77
70823	79	

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
6	42610	77
	42619	99
	42621	88
	42623	73
	42624	98
	42625	66
	42626	56
	42629	62
	42632	54
	42635	82
	42636	73
	42638	59
	42639	66
	42867	65
	70813	78

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
10	42602	66
	42604	60
	42609	68
	42611	64
	42621	52
	42623	64
	42624	81
	42626	56
	42629	55
	42632	46
	42635	64
	42636	64
	42638	63
	42639	55
	70813	66

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
14	47466	69
	47471	53
	47475	45
	42602	48
	42604	64
	42609	72
	42611	64
	42614	48
	42626	48
	42629	42
	42632	50
	42635	70
	42636	73
	42638	64
	42639	59

Alter (Wochen)	Kalb	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
24	47466	64
	47471	45
	47475	48
	42602	52
	42604	65
	42609	69
	42611	52
	42614	51
	42626	51
	42629	57
	42632	61
	42635	70
	42636	77
	42638	77
	42639	61

Tabelle 4.2.8.1.A: Altersabhängige Triglyceridkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
1	42619	0,20
	42629	0,44
	42632	0,07
	42635	0,10
	42636	0,45
	42638	0,20
	42639	0,06
	42867	0,50
	42868	0,21
	42870	0,46
	42878	0,47
	70813	0,16
	70815	0,30
	70817	0,01
	70820	0,08

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
2	42626	0,17
	42629	0,06
	42632	0,20
	42635	0,20
	42636	0,10
	42638	0,16
	42639	0,22
	42867	0,08
	42869	0,31
	42870	0,01
	70813	0,43
	70815	0,28
	70817	0,48
	70820	0,42
	70823	0,26

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
6	42610	0,15
	42619	0,26
	42621	0,21
	42623	0,09
	42624	0,17
	42625	0,23
	42626	0,45
	42629	0,46
	42632	0,19
	42635	0,23
	42636	0,69
	42638	0,19
	42639	0,42
	42867	0,39
	70813	0,20

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
10	42602	0,27
	42604	0,13
	42609	0,25
	42611	0,36
	42621	0,29
	42623	0,45
	42624	0,10
	42626	0,26
	42629	0,92
	42632	0,31
	42635	0,34
	42636	0,31
	42638	0,14
	42639	0,41
	70813	0,42

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
14	47466	0,10
	47471	0,15
	47475	0,20
	42602	0,20
	42604	0,31
	42609	0,28
	42611	0,16
	42614	0,35
	42626	0,31
	42629	0,39
	42632	0,24
	42635	0,26
	42636	0,24
	42638	0,22
42639	0,37	

Alter (Wochen)	Kalb	Triglyceride (mmol/l)
24	47466	0,37
	47471	0,15
	47475	0,16
	42602	0,24
	42604	0,33
	42609	0,41
	42611	0,30
	42614	0,20
	42626	0,30
	42629	0,29
	42632	0,29
	42635	0,24
	42636	0,50
	42638	0,35
42639	0,28	

Tabelle 4.2.9.1.A: Altersabhängige β -Hydroxybutyratkonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
1	42619	0,0
	42629	0,0
	42632	0,0
	42635	0,0
	42636	0,0
	42638	0,0
	42639	0,0
	42867	0,0
	42868	0,0
	42870	0,0
	42878	0,0
	70813	0,0
	70815	0,0
	70817	0,0
70820	0,1	

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
2	42626	0,0
	42629	0,0
	42632	0,0
	42635	0,0
	42636	0,0
	42638	0,0
	42639	0,0
	42867	0,0
	42869	0,0
	42870	0,0
	70813	0,0
	70815	0,0
	70817	0,1
	70820	0,0
70823	0,0	

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
6	42610	0,0
	42619	0,0
	42621	0,1
	42623	0,0
	42624	0,0
	42625	0,0
	42626	0,0
	42629	0,0
	42632	0,1
	42635	0,0
	42636	0,0
	42638	0,0
	42639	0,0
	42867	0,0
	70813	0,0

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
10	42602	0,1
	42604	0,0
	42609	0,1
	42611	0,1
	42621	0,1
	42623	0,1
	42624	0,1
	42626	0,1
	42629	0,1
	42632	0,1
	42635	0,1
	42636	0,1
	42638	0,1
	42639	0,2
	70813	0,0

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
14	47466	0,2
	47471	0,2
	47475	0,2
	42602	0,1
	42604	0,3
	42609	0,5
	42611	0,3
	42614	0,2
	42626	0,4
	42629	0,4
	42632	0,2
	42635	0,2
	42636	0,5
	42638	0,4
	42639	0,5

Alter (Wochen)	Kalb	β -Hydroxybutyrat (mmol/l)
24	47466	0,4
	47471	0,4
	47475	0,4
	42602	0,1
	42604	0,4
	42609	0,4
	42611	0,4
	42614	0,5
	42626	0,5
	42629	0,2
	42632	0,2
	42635	0,5
	42636	0,4
	42638	0,2
	42639	0,2

Tabelle 4.2.10.1.A: Altersabhängige Glucosekonzentration (mmol/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
1	42619	5,47
	42629	6,56
	42632	5,94
	42635	5,37
	42636	5,82
	42638	6,09
	42639	5,05
	42867	6,83
	42868	6,50
	42870	7,03
	42878	7,75
	70813	6,20
	70815	7,14
	70817	6,80
70820	5,95	

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
2	42626	6,09
	42629	5,42
	42632	5,70
	42635	5,45
	42636	7,00
	42638	4,97
	42639	5,13
	42867	12,48
	42869	6,24
	42870	7,14
	70813	4,25
	70815	5,46
	70817	6,63
	70820	7,84
70823	4,55	

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
6	42610	5,00
	42619	3,84
	42621	7,02
	42623	4,07
	42624	4,46
	42625	4,14
	42626	5,59
	42629	6,32
	42632	5,80
	42635	4,24
	42636	5,89
	42638	6,52
	42639	6,24
	42867	3,98
70813	5,51	

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
10	42602	4,29
	42604	3,42
	42609	4,36
	42611	5,68
	42621	4,83
	42623	6,42
	42624	4,14
	42626	4,87
	42629	5,51
	42632	5,85
	42635	5,00
	42636	5,65
	42638	4,72
	42639	3,99
70813	4,92	

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
14	47466	3,09
	47471	3,67
	47475	4,14
	42602	4,27
	42604	5,09
	42609	4,50
	42611	3,87
	42614	5,21
	42626	5,05
	42629	4,91
	42632	5,27
	42635	3,99
	42636	4,75
	42638	4,82
42639	4,65	

Alter (Wochen)	Kalb	Glucose (mmol/l)
24	47466	4,97
	47471	5,41
	47475	5,30
	42602	5,70
	42604	5,51
	42609	6,06
	42611	6,10
	42614	5,78
	42626	6,12
	42629	5,22
	42632	5,30
	42635	4,68
	42636	6,22
	42638	6,02
42639	5,42	

Tabelle 4.2.11.1.A: Altersabhängige Insulinkonzentration (mU/l) im Blutplasma von Kälbern

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
1	42619	67,39
	42629	50,44
	42632	18,49
	42635	22,48
	42636	29,84
	42638	83,41
	42639	24,16
	42867	37,96
	42868	82,83
	42870	55,14
	42878	87,25
	70813	27,89
	70815	226,07
	70817	54,22
	70820	6,86

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
2	42626	19,27
	42629	15,79
	42632	21,09
	42635	45,09
	42636	9,14
	42638	31,08
	42639	22,99
	42867	4,53
	42869	49,44
	42870	70,98
	70813	29,51
	70815	28,76
	70817	62,62
	70820	65,93
70823	9,78	

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
6	42610	31,73
	42619	29,45
	42621	28,74
	42623	6,00
	42624	11,32
	42625	13,04
	42626	26,25
	42629	84,99
	42632	31,82
	42635	71,58
	42636	53,33
	42638	87,30
	42639	125,85
	42867	39,74
	70813	20,50

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
10	42602	36,94
	42604	8,16
	42609	7,16
	42611	21,12
	42621	18,81
	42623	52,97
	42624	13,92
	42626	10,87
	42629	13,56
	42632	73,35
	42635	16,40
	42636	39,82
	42638	6,70
	42639	7,46
	70813	25,19

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
14	47466	7,50
	47471	9,38
	47475	14,52
	42602	10,09
	42604	16,33
	42609	53,45
	42611	6,70
	42614	14,12
	42626	16,58
	42629	16,25
	42632	9,41
	42635	17,22
	42636	20,68
	42638	14,26
	42639	14,95

Alter (Wochen)	Kalb	Insulin (mU/l)
24	47466	37,61
	47471	26,77
	47475	16,86
	42602	16,35
	42604	67,15
	42609	25,59
	42611	29,87
	42614	44,87
	42626	69,78
	42629	14,43
	42632	19,84
	42635	22,69
	42636	28,03
	42638	32,83
	42639	18,79

10 DANKSAGUNG

Ein schöner, aber auch heikler Punkt ist es – vermutlich bei jeder wissenschaftlichen Arbeit – zum Abschluss das gesamte Projekt „Revue passieren“ zu lassen und dabei noch einmal in Form von herzlichen Worten des Dankes den Menschen Respekt zu zollen, ohne die eine solche Arbeit – wie auch diese hier – nicht möglich gewesen wäre. Schön, weil dabei viele gemeinsame Arbeitsstunden am inneren Auge vorüberziehen und das aus der entspannten Sicht, die einem nur ein Zeitpunkt nach Abschluss eines Projektes bieten kann. Heikel, weil man dabei jemanden vergessen könnte ausdrücklich zu nennen. So sind auch an der Entstehung dieser Doktorarbeit eine ganze Reihe an Personen beteiligt gewesen, die ich hier nicht namentlich nenne, deren Unterstützung und Mitarbeit aber dennoch unentbehrlich waren! All jenen möchte ich an dieser Stelle anonym ein herzliches „Danke schön“ aussprechen!

Ausdrücklich nennen möchte ich Prof. Dr. M. Stangassinger, Lehrstuhl für Tierphysiologie. Von der Zusage zur Betreuung bis zur letzten Korrektur habe ich mich durchgehend hervorragend betreut gefühlt und meinem Doktorvater unzählige Stunden seiner Zeit gekostet. Dafür möchte ich mich ganz, ganz herzlich bedanken. Neben Dr. W. Tiemeyer, Frau S. Hirmer und Dr. J. Schneider haben mich viele weitere Mitarbeiter des Lehrstuhls für Tierphysiologie in ihren Tätigkeitsbereichen, mit ihren Kompetenzen unterstützt, denen ich hiermit stellvertretend für alle anderen danken möchte.

Ebenso wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, wenn Prof. Dr. M. Förster und Dr. A. Scholz mir nicht die Bereitschaft und Unterstützung des Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät erklärt hätten, dort mit dem Tierbestand des LVGs die Untersuchungen durchzuführen. Darüber hinaus hat Dr. S. Nüske (LVG) bei der Probenentnahme viel praktische Unterstützung geleistet. Vielen herzlichen Dank Ihnen, sowie weiteren Mitarbeitern des LVGs die mich in meiner Arbeit unterstützt haben.

Ohne das Labor in der Medizinischen Kleintierklinik wäre die Bestimmung einiger Parameter nicht möglich gewesen. Allen Mitarbeitern vielen Dank für Ihre Mitarbeit, ebenso wie den Kollegen im Labor in der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung für die analytischen Tätigkeiten.

Und schließlich möchte ich meinen Freunden und insbesondere meiner Familie danken, die mich als „stille Mitarbeiter“ in vielfältiger Form unterstützt und mir die Motivation zur Aufnahme und schließlich auch zum Abschluss der Arbeit gegeben haben.

Ein besonderer Herzenswunsch ist es mir, zu meinem großen Bedauern posthum, meinem Förderer und Freund Dr. O. Fischer zu danken, ohne den ich genauso wenig Tierärztin geworden wäre, wie es auch diese Dissertation ohne ihn nicht gegeben hätte. Danke!