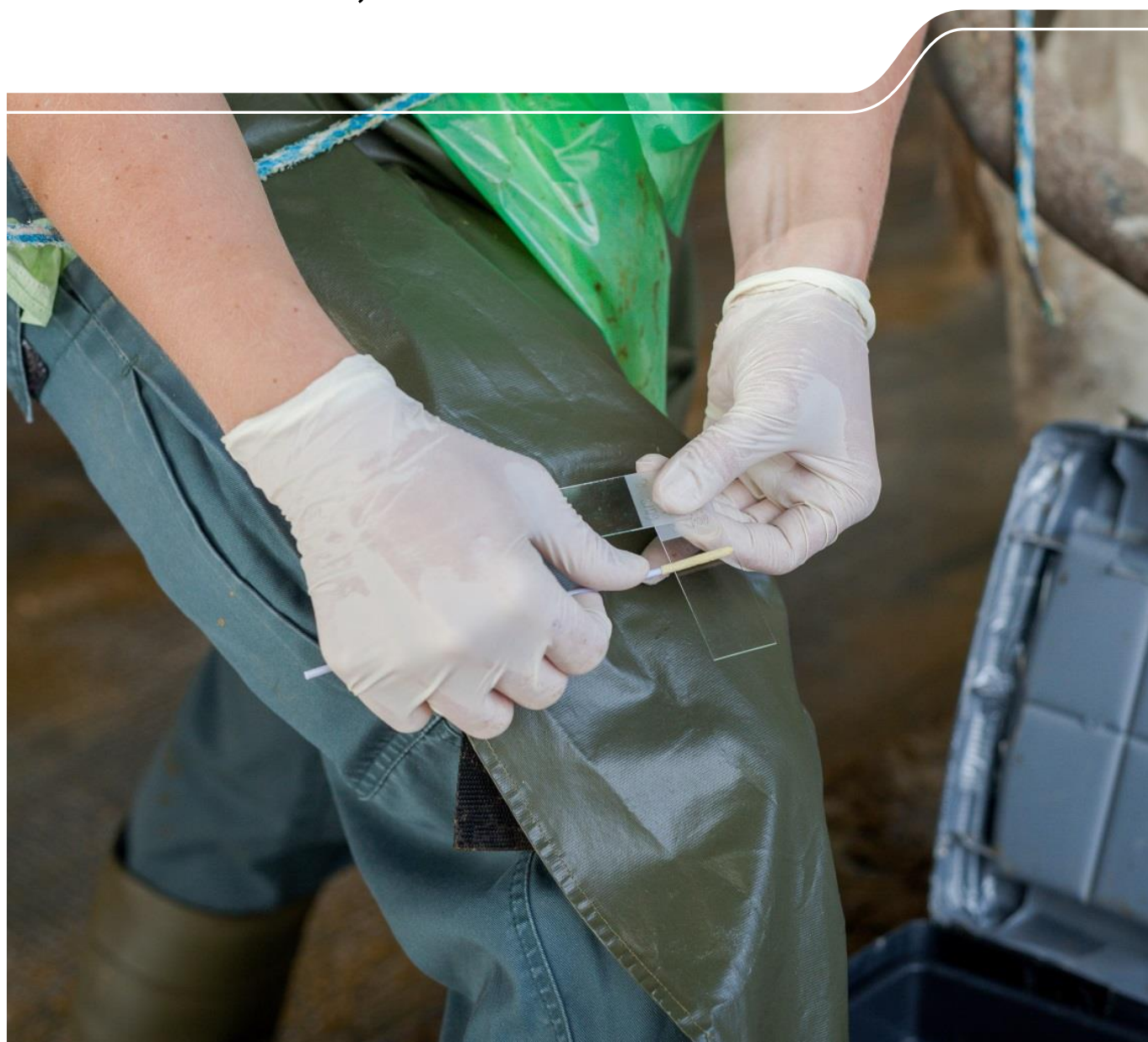


# Ausbleibende Trächtigkeit gesunder Milchkühe

Schriftenreihe, Heft 6/2020



# Untersuchung der Stoffwechselsituation und der Stressbelastung anhand von endokrinen und metabolischen Parametern sowie der Uterusschleimhaut als Ursache für die ausbleibende Trächtigkeit äußerlich gesunder Milchkühe

Markus Jung, Kirsten Mense, Sarah Peter, Levke Jessen, Ilka Steinhöfel

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b> .....	<b>10</b>
2.1	Bedeutung der somatotropen Achse für die Implantation .....	10
2.2	Bedeutung der HPA-Achse („Stress“) für die Fruchtbarkeit .....	12
2.3	Bedeutung des Immunsystems im bovinen Endometrium .....	14
2.4	Bedeutung von Mucinen für das bovine Endometrium .....	15
2.5	Bedeutung der Stoffwechsellage für die Fruchtbarkeit .....	16
2.6	Bedeutung von Progesteron für den Erhalt der Trächtigkeit .....	16
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>17</b>
3.1	Projektphasen .....	17
3.1.1	Vorbereitungsphase .....	17
3.1.2	Durchführungsphase .....	17
3.1.3	Auswertungsphase .....	17
3.1.4	Berichterstattung .....	17
3.2	Versuchsbetrieb und Versuchstiere .....	18
3.3	Versuchsaufbau und Probenentnahme .....	19
3.3.1	Auswahl der Parameter .....	23
3.3.2	Zuordnung der Parameter zu den Untersuchungszeitpunkten .....	23
3.4	Statistische Auswertung .....	24
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>26</b>
4.1	Fruchtbarkeitsergebnisse bei unterschiedlicher FWZ .....	26
4.2	Blut- und Uterusparameter bei unterschiedlicher FWZ .....	28
4.3	Anteil von Kühen mit hoher Belastung .....	31
4.4	Korrelation der Parameter mit Milchleistung und Körperkondition .....	33
4.5	Abhängigkeit zum Trächtigkeitsstatus .....	35
4.5.1	Unterschiede innerhalb der UG FWZ42 .....	35
4.5.2	Unterschiede innerhalb der UG FWZ120 .....	41
4.6	IGF1 im Verlauf der Trächtigkeit .....	44
4.7	Fertilitätsprognosen .....	48
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>51</b>
5.1	Zusammenhang der Fruchtbarkeit mit der FWZ .....	51
5.2	Zusammenhang der somatotropen Achse mit der Fruchtbarkeit .....	52
5.3	Zusammenhang von mit Stress assoziierten Parametern und der Fruchtbarkeit .....	55
5.4	Zusammenhang verschiedener Immunparameter mit der Fruchtbarkeit .....	57
5.5	Zusammenhang von endometrialen Mucinen mit der Fruchtbarkeit .....	58
5.6	Zusammenhang der Stoffwechsellage mit der Fruchtbarkeit .....	59
5.7	Zusammenhang von Progesteron mit der Fruchtbarkeit .....	60
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>61</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>64</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Somatotrope Achse.....	11
Abbildung 2: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse.....	13
Abbildung 3: Flussdiagramm; Anzahl und Verteilung der in der Studie aufgenommenen Tiere .....	19
Abbildung 4: Kennzeichnung einer Kuh mit einem Halsband für die UG FWZ120 Tage. ....	20
Abbildung 5: Ultrasonographische Untersuchung, B: TU Tag 33 p.i., C: TU Tag 46 p.i.....	21
Abbildung 6: Zeitstrahl UG FWZ42 .....	21
Abbildung 7: Zeitstrahl UG FWZ120; nach KB identische Untersuchungen zur UG FWZ42 .....	21
Abbildung 8: Fotos der Entnahme und Verarbeitung der Blutproben .....	22
Abbildung 9: Fotos der Entnahme und Verarbeitung der Uterusabstriche .....	22
Abbildung 10: Flussdiagramm; Tierzahlen für die Berechnung des Erstbesamungserfolges .....	27
Abbildung 11: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IGF1 in den UG FWZ42 und FWZ120.....	29
Abbildung 12: Boxplots; Plasmakonzentrationen von Haptoglobin in den UG FWZ42 und FWZ120 .....	29
Abbildung 13: Boxplots; Serumkonzentrationen von NEFA in den UG FWZ42 und FWZ120 .....	29
Abbildung 14: Boxplots; Serumkonzentrationen von BHB in den UG FWZ42 und FWZ120.....	30
Abbildung 15: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEAS in den UG FWZ42 und FWZ120.....	30
Abbildung 16: Boxplots; Endometrialer Anteil der PMN in den UG FWZ42 und FWZ120 .....	30
Abbildung 17: Streudiagramme; Korrelationen der 100-Tage-Milchleistung zu der Blutplasmakonzentration von IGF1, der Blutserumkonzentration von Cortisol und dem Cortisol/DHEA-Quotient.....	34
Abbildung 18: Streudiagramme; Korrelationen der Rückenfettdicke an Tag 38 ± 3 p.p. zu (A) der Blutplasmakonzentration von IGF1 und der normalisierten mRNA Expression von (B) <i>IL1A</i> und (C) <i>PAPPA</i> .....	34
Abbildung 19: Boxplots; Serumkonzentrationen von Cortisol in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	36
Abbildung 20: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	37
Abbildung 21: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEAS in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	38
Abbildung 22: Boxplots; Cortisol/DHEA-Quotient in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	39
Abbildung 23: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von <i>MUC12</i> in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten.....	39
Abbildung 24: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von <i>IGF1R</i> in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten.....	40
Abbildung 25: Boxplots; Endometrialer Anteil der PMN in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten .....	41
Abbildung 26: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten .....	42
Abbildung 27: Boxplots; Cortisol/DHEA-Quotient der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten.....	43
Abbildung 28: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von <i>IL1A</i> in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten.....	43
Abbildung 29: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von <i>PAPPA</i> in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten.....	44

Abbildung 30: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IL1A in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	46
Abbildung 31: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten .....	47
Abbildung 32: Boxplots; Serumkonzentrationen von IGFBP4 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.....	48
Abbildung 33: Streudiagramme; Korrelation der Rastzeit zu (A) der Blutplasmakonzentration von IGF1 und (B) dem endometrialen Anteil der PMN, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p.....	49
Abbildung 34: Streudiagramm; Korrelation der Güstzeit zu IGF1 an Tag 38 ± 3 p.p. ....	49
Abbildung 35: Boxplots; Verteilung der endometrialen mRNA-Expression von <i>IL1B</i> an Tag 38 ± 3 p.p. in den Gruppen „fruchtbar“ und „unfruchtbar“ .....	50

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Orientierung zur Bewertung der Korrelationskoeffizienten .....	25
Tabelle 2:	Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ der UG FWZ42 und FWZ120.....	26
Tabelle 3:	Erstbesamungserfolg der beiden Wartezeitgruppen UG FWZ42 und FWZ120 .....	27
Tabelle 4:	Anteil embryonaler/fetaler Mortalitäten in den beiden Wartezeitgruppen UG FWZ42 und FWZ120 .....	28
Tabelle 5:	Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, der Serumkonzentrationen von NEFA, BHB und DHEAS und des endometrialen Anteils der PMN an Tag 1 p.i. in den UG FWZ42 und FWZ120 und p-Werte.....	28
Tabelle 6:	Anzahl der Messungen zur Serumkonzentrationen von Cortisol, NEFA, BHB und Haptoglobin und das 75%-Quantil zur Festlegung eines Grenzwertes .....	31
Tabelle 7:	Anzahl der Messungen zur Plasmakonzentration von IGF1 und das 25%-Quantil zur Festlegung eines Grenzwertes .....	32
Tabelle 8:	Anteil der Kühe oberhalb des 75%-Quantils für Cortisol, NEFA, BHB, Haptoglobin und PMN in % an Tag 38 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 .....	32
Tabelle 9:	Anteil der Kühe unterhalb des 25%-Quantils für IGF1 in % an Tag 38 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 .....	32
Tabelle 10:	Anteil der Kühe oberhalb des 75%-Quantils für Cortisol, NEFA, BHB, Haptoglobin und PMN in % an Tag 38 ± 3 p.p., Tag 118 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ120 .....	33
Tabelle 11:	Anteil der Kühe unterhalb des 25%-Quantils für IGF1 in % an Tag 38 ± 3 p.p., Tag 118 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ120.....	33
Tabelle 12:	Signifikante Korrelationskoeffizienten der 100-Tage-Milchleistung und der Rückenfettdicke an Tag 38 ± 3 p.p. zu IGF1 und Cortisol, dem Cortisol/DHEA-Quotienten und der endometrialen mRNA-Expression von <i>IL1A</i> und <i>PAPPA</i> jeweils an Tag 38 ± 3 p.p. ....	34
Tabelle 13:	Medianwerte der Serumkonzentrationen von Cortisol in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und p-Werte der Gruppenvergleiche.....	35
Tabelle 14:	Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	36
Tabelle 15:	Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEAS in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	37
Tabelle 16:	Medianwerte des Cortisol/DHEA-Quotienten in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	38
Tabelle 17:	Medianwerte der normalisierten mRNA Expression von <i>MUC12</i> in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	39
Tabelle 18:	Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von <i>IGF1R</i> in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	40
Tabelle 19:	Medianwerte des endometrialen Anteiles der PMN in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	40
Tabelle 20:	Mittelwerte ± Standardabweichungen der Serumkonzentrationen von Progesteron in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (t vs. EM) .....	41
Tabelle 21:	Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	42

Tabelle 22:	Medianwerte des Cortisol/DHEA-Quotienten in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t) ..	42
Tabelle 23:	Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von <i>IL1A</i> in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	43
Tabelle 24:	Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von <i>PAPPA</i> in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	44
Tabelle 25:	Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	45
Tabelle 26:	p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGF1 in der UG FWZ42 zwischen zwei nacheinander folgenden Zeitpunkten innerhalb einer Gruppe (t, nt und EM).....	45
Tabelle 27:	Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche .....	46
Tabelle 28:	p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGF1 in der UG FWZ120 zwischen zwei nacheinander folgenden Zeitpunkten innerhalb der Gruppen t und nt .....	46
Tabelle 29:	Medianwerte der Serumkonzentrationen von IGFBP4 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten .....	47
Tabelle 30:	p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGFBP4 in der UG FWZ42 zwischen zwei Zeitpunkten innerhalb der Gruppen t, nt und EM .....	47
Tabelle 31:	Signifikante Korrelationskoeffizienten der Rast- und Güstzeit der UG FWZ42 zu IGF1 und dem endometrialen Anteil der PMN an Tag 38 ± 3 p.p.....	48

## Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
BCS	Body Condition Score
BHB	beta-Hydroxybutyrat
CRH	Corticotropin releasing hormone (Corticoliberin)
CXCL1/2, -3, -5	Chemokin-Ligand 1/2, Chemokin-Ligand 3, Chemokin-Ligand 5
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
EBE	Erstbesamungserfolg
EBR	Erstbesamungsrate
EM	embryonale Mortalität
FM	fetale Mortalität
FWZ	freiwillige Wartezeit
GH	growth hormone (Wachstumshormon)
GHBP	growth hormone binding protein (Wachstumshormon-Bindungsprotein)
GHIH	growth hormone inhibiting hormone (Somatostatin)
GHR	growth hormone receptor (Wachstumshormon-Rezeptor)
GHRH	growth hormone releasing hormone (Somatoliberin)
HPA	hypothalamus-pituitary-adrenocortical (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinde)
HPG	hypothalamus-pituitary-gonadal (Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden)
HVL	Hypophysenvorderlappen
IGFBP1-9	IGF-Bindungsprotein 1 bis 9
IGF1 und 2	Insuline-like growth factor 1 and 2 (Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1 und 2)
IGF1R	Insuline-like growth factor 1 receptor (Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1 Rezeptor)
IGF2R	Insuline-like growth factor 2 receptor (Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 2 Rezeptor)
IL1A, IL1B	Interleukin 1 alpha, Interleukin 1 beta
IL8	Interleukin 8
KB	künstliche Besamung
LPS	Lipopolysaccharid
ML100	Milchleistung der ersten 100 Tage
mRNA	messenger ribonucleic acid (Boten-Ribonukleinsäure)
MUC4, MUC12	Mucin 4, Mucin 12
NEB	negative Energiebilanz
NEFA	non esterified fatty acids (unveresterte Fettsäuren)
P4	Progesteron
p.i.	post inseminationem
p.p.	post partum
PAG	pregnancy-associated glycoproteins (Trächtigkeitsassoziierte Glykoproteine)
PAPPA	pregnancy-associated Plasma Protein A (Trächtigkeitsassoziiertes Plasma Protein A)
RBC	repeat breeder cows
RFD	Rückenfett dicke
StU1	Sterilitätsuntersuchung 1
TU1-3	Trächtigkeitsuntersuchung 1 bis 3
U1-3	Untersuchung 1 bis 3
UG	Untersuchungsgruppe



# 1 Einleitung

Fertilitätsprobleme stellen heutzutage deutschlandweit die Hauptabgangsursache für Milchkühe dar. Laut dem Bericht des Bundesverbandes Rind und Schwein e. V. von 2018 lag die Abgangsursache „Sterilität“ im Jahre 2017 bei 20,4 % und somit an erster Stelle – deutlich vor Euter (13,5 %) – und Klauen-/Gliederkrankungen (10,9 %) (BRS 2018). Die Besamungserfolge sind dabei rückläufig, was infolge zu einem erhöhten Besamungsaufwand führt. Tiere mit Fertilitätsproblemen bedeuten eine immense ökonomische Belastung für die landwirtschaftlichen Betriebe (INCHAISRI ET AL., 2010).

Um Fruchtbarkeitsproblemen in Milchviehbetrieben entgegenwirken zu können, entspricht die hier vorgestellte Studie einer Ursachenanalyse für einen schlechten Besamungserfolg bzw. embryonale/fetale Mortalität anhand von ausgewählten Parametern in Blutproben und Uterusabstrichen bei Holstein Friesian Kühen. Darüber hinaus wird betrachtet, ob nach Verlängerung der freiwilligen Wartezeit von 42 auf 120 Tage ein besserer Besamungserfolg und eine geringere Anzahl Fruchtverluste zu beobachten sind und inwiefern dies anhand der untersuchten Parameter untermauert werden kann.

In Bezug auf das Management eines Milchviehbetriebes bilden die Erkenntnisse der hier vorliegenden Studie eine wichtige Wissensgrundlage für die Entwicklung moderner Fruchtbarkeitskonzepte.

## 2 Literaturübersicht

Der vorliegenden Studie wurde die Hypothese zugrunde gelegt, dass man durch die Verlängerung der freiwilligen Wartezeit (FWZ) von 42 auf 120 Tage bei Kühen die Fruchtbarkeitsergebnisse verbessern kann. Eine groß angelegte aktuelle Studie von NIOZAS ET AL. (2019b), in der Kühe mit einer FWZ von 40, 120 und 180 Tagen verglichen wurden, konnte zeigen, dass sich bei einer verlängerten Wartezeit sowohl die Erstbesamungsrate (EBR) innerhalb der ersten 46 Tage nach Beendigung der FWZ verbessert, der Erstbesamungserfolg (EBE) steigt und der Einsatz von Hormonprogrammen reduziert werden kann (NIOZAS ET AL., 2019B). Die Verlängerung der FWZ auf 120 Tage hatte zudem keinen nachteiligen Effekt auf die Milchproduktion, unfreiwillige Abgangsraten, die Eutergesundheit und den Body Condition Score (BCS) (NIOZAS ET AL., 2019A). In einem von zwei untersuchten thüringischen Milchviehbetrieben verbesserte sich bei Kühen ab der zweiten Laktation nach einer Verlängerung der FWZ von 42 auf 120 Tage ebenfalls der EBE, im zweiten Betrieb konnte allerdings eine Verschlechterung beobachtet werden, was auf eine Betriebspezifität hindeuten kann (DEIBING, 2018). Es ist allerdings zu beachten, dass in dieser Studie die Gruppengrößen gering waren.

Um eine mögliche Verbesserung der Fruchtbarkeit in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen (UG) FWZ42 und FWZ120 biologisch erklären zu können, wurden für die vorliegende Studie Parameter der somatotropen Achse, der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HPA; hypothalamus-pituitary-adrenocortical)-Achse („Stressparameter“), des Stoffwechsels, der Entzündung und der Uterusgesundheit ausgewählt. Die Grundlagen eines möglichen Zusammenhanges mit der bovinen Fruchtbarkeit werden nachfolgend erläutert.

### 2.1 Bedeutung der somatotropen Achse für die Implantation

Eine sehr wichtige Rolle für die metabolische Adaptation der Trächtigkeit spielt die somatotrope Achse (MONZAVI und COHEN, 2002). Als zentrale Komponenten dieser endokrinen Achse werden Somatoliberin (GHRH; growth hormone releasing hormone), Somatostatin (GHIH; growth hormone inhibiting hormone), das Wachstumshormon (GH; growth hormone), der Wachstumshormon-Rezeptor (GHR; growth hormone receptor), die Wachstumshormon-Bindungsproteine (GHBP; growth hormone binding protein), der Insulinähnliche Wachstumsfaktor 1 (IGF1; Insuline-like Growth Factor 1), IGF2 und deren Rezeptoren (IGF1R; Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1 Rezeptor und IGF2R), sowie die entsprechenden Bindungsproteine (IGFBP; insulinähnlicher Wachstumsfaktor-Bindungsproteine) beschrieben (RENAVILLE ET AL., 2002; FRAGO AND CHOWEN, 2005). Der Aufbau der somatotropen Achse wird anhand der Abbildung 1 verdeutlicht.

## Somatotrope Achse

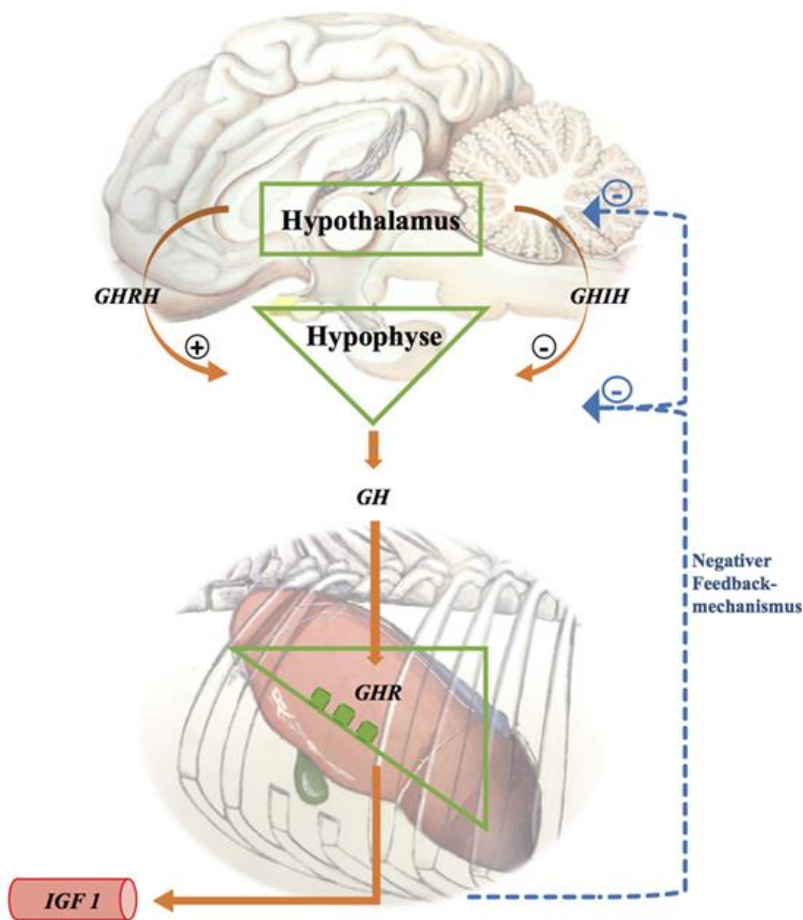


Abbildung 1: Somatotrope Achse, modifiziert nach JESSEN (2018) und PFARRER ET AL. (2017)

In der vorliegenden Studie soll bezüglich der somatotropen Achse vor allem IGF1 betrachtet werden. IGF1 wird nach Aktivierung des dem GHR nachgeschalteten Signaltransduktionsweges vor allem aus der Leber ausgeschüttet (FRAGO und CHOWEN, 2005) und seine Konzentration ist im Blut gut nachweisbar. BONILLA ET AL. (2011) beschreiben IGF1 als ein sehr wichtiges endokrines Signal für die Regulation der frühembryonalen Entwicklung, während ASHWORTH ET AL. (2005) und ROBINSON ET AL. (2000) die Bedeutung des lokalen endometrialen IGF-Systems für die embryomaternalen Kommunikation, die Dezidualisierung und das fetale Wachstum darstellen (ROBINSON ET AL., 2000, ASHWORTH ET AL., 2005; BONILLA ET AL., 2011A, BONILLA ET AL. 2011B). In der Studie von MENSE ET AL. (2015) konnte gezeigt werden, dass IGF1 im physiologischen Zyklus durch die Sexualsteroidhormone Östrogen und Progesteron beeinflusst wird, was als eine Vorbereitung auf die mögliche Etablierung einer Trächtigkeit betrachtet werden kann (MENSE, 2015). Aus *In vitro*-Studien weiß man ferner von positiven Effekten von IGF1 auf bovine Embryo (BLOCK, 2007). Somit ist IGF1 ein Parameter, der voraussichtlich bedeutend für die Trächtigkeit oder das Ausbleiben dieser und evtl. auch für das Auftreten von Fruchttod ist.

Es wird davon ausgegangen, dass durch eine erhöhte mRNA-Expression von *IGF1* und eine davon ausgehende vermehrte Synthese des Peptides IGF1 im Endometrium eine Implantation begünstigt wird. IGF1 ist, wie zuvor schon beschrieben, ein wachstumsförderndes Peptid, welches in das Wachstum, die Apoptose und metabolische Prozesse von Zellen und Geweben involviert und somit relevant für fetales und plazentäres Wachstum ist (ZHOU ET AL., 2003).

IGF1 entfaltet seine Wirkung durch die Bindung an den spezifischen IGF1R. Beim IGF1R handelt es sich um einen transmembranen Rezeptor, welcher über die Aktivierung der Tyrosin-Kinase die intrazelluläre Signaltransduktion vermittelt und in fast allen Geweben vorkommt (COLLETT-SOLBERG UND COHEN, 2000; ZHOU ET AL., 2003). Der IGF1 Rezeptor hat ein Molekulargewicht von 440 kDa und eine 50%ige Homologie zum Insulinrezeptor (COLLETT-SOLBERG UND COHEN, 2000). Eine Untersuchung der *IGF1R*-mRNA Expression im Uterusabstrich ist interessant, um die Wirkmechanismen von IGF1 auf das endometriale System genauer zu verstehen. IGF1 kann jedoch nur an seinen Rezeptor binden, wenn es als freies IGF1 vorliegt und nicht an seine Bindungsproteine (IGFBP1-9) gebunden ist. Durch die Bindung dieser IGFBPs an IGF1 wird ein kontrollierter Transport gewährleistet und durch Spaltung der Bindungsproteine eine gezielte Rezeptor-Interaktion vermittelt (MONZAVI und COHEN, 2002). Es wird davon ausgegangen, dass beim Rind spezifische Proteasen für die Spaltung der Bindungsproteine und damit die Freisetzung von IGF1 verantwortlich sind. Beim Menschen ist bekannt, dass erst durch eine proteolytische Spaltung von IGFBP4 durch die Metalloproteinase PAPPA (Pregnancy Associated Plasma Protein-A) gebundenes IGF1 freigesetzt wird und an seinen Rezeptor binden kann (LAWRENCE ET AL., 1999). PAPPA kann im Serum schwangerer Frauen nachgewiesen werden (CONOVER, 2012) und auch in der Follikelflüssigkeit von Rindern konnte PAPPA detektiert werden (MAZERBOURG ET AL., 2001).

## 2.2 Bedeutung der HPA-Achse („Stress“) für die Fruchtbarkeit

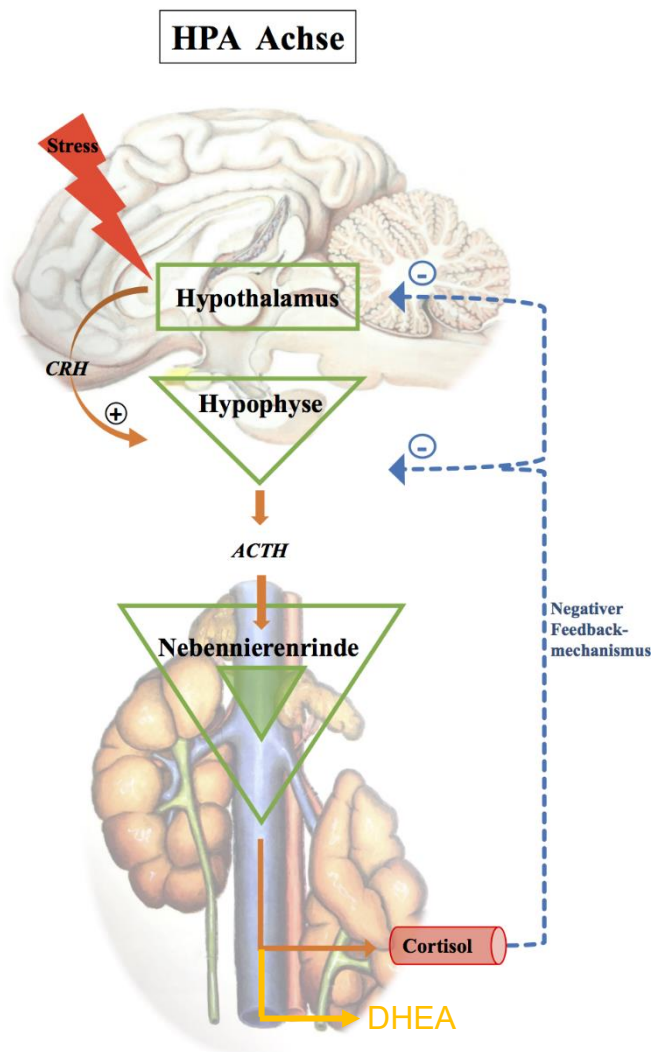
In der Literatur finden sich Hinweise darauf, dass der Organismus durch die Einwirkung von Stress maßgeblich beeinflusst wird. Durch eine indirekte Beeinflussung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden (HPG)-Achse hat Stress ebenfalls einen Einfluss auf das Reproduktionsgeschehen (RIVIER und RIVEST, 1991; TILBROOK ET AL., 2002).

In der Literatur wird zumeist zwischen akutem und chronischem Stress unterschieden. Beide Formen beeinträchtigen das Individuum (BURCHFIELD, 1979; SAPOLSKY, 1987). Im Allgemeinen resultiert die akute Stressreaktion in Regulations- und Anpassungsmechanismen, um in Gefahrensituationen das Überleben des Organismus zu sichern, was auch als klassische „fight and flight“-Reaktion bezeichnet wird (CHROUSOS UND GOLD, (1992); BARTLETT, 1998). Die Folge ist eine Verschiebung des anabolen Metabolismus in Richtung Katabolismus, um Energie für die Stressreaktion bereitzustellen. Hierbei kommt es unter anderem zu einer Steigerung der Herz- und Kreislauffähigkeit, sowie zur Erhöhung der Glukoneogenese, Proteolyse und Lipolyse (ROMERO und BUTLER, 2007). Körperabläufe, die nicht zu einer Erhöhung der Energiezufuhr beitragen, werden während der Stresssituation vermindert. Hierzu zählen beispielsweise das Wachstum (SAPOLSKY, 1992) und die Reproduktion (KOOLHAAS ET AL., 2011).

Vermittelt werden die Mechanismen der akuten Stresssystemaktivierung hauptsächlich über die Hormone der Nebenniere (WINGFIELD ET AL., 1997). Die Ausschüttung der Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin aus dem Nebennierenmark wird dabei in Sekundenschnelle über das sympathische Nervensystem vermittelt (WINGFIELD ET AL., 1997). Die Ausschüttung der Hormone aus der Nebennierenrinde wird über die HPA-Achse (Abbildung 2) gesteuert und ist etwas zeitversetzt nach Einwirkung des Stimulus nachweisbar (NEGRO-VILAR, 1993; MATTERI ET AL., 2000). Da in dieser Arbeit vor allem die Aktivierung der HPA untersucht wird, weil sie sich auf Grund der zeitlichen Abfolge am besten für die Evaluierung von Stresszuständen des Tieres eignet, wird ihr Aufbau im Folgenden beschrieben.

Durch die Einwirkung von Stressoren wird im paraventriculären Nucleus des Hypothalamus die Sekretion des Peptids Corticotropin-releasing Hormone (CRH) angeregt (DOBSON AND SMITH, 2000; BURDICK ET AL., 2011). CRH gelangt über das Pfortadersystem schnell zum Hypophysenvorderlappen (HVL, Adenohypophyse). Dort bewirkt es die Freisetzung von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) (VON ENGELHARDT ET AL., 2015). In der Nebennierenrinde fördert ACTH die Synthese und Abgabe vor allem von Glucocorticoiden ins Blut. Zu diesen gehört auch Cortisol, das in der

Zona fasciculata der Nebenniere gebildet wird (WINGFIELD ET AL., 1997). Ebenfalls durch ACTH beeinflusst wird das Steroidhormon Dehydroepiandrosteron (DHEA), sowie sein Sulfatester Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS). Diese werden in der Zona reticularis der Nebennierenrinde gebildet (ABRAHAM, 1974; ENDOH ET AL., 1996). PARKER (1999) gibt allerdings zu bedenken, dass die Ausschüttung dieser Hormone neben ACTH auch noch durch andere Faktoren bedingt werden kann (PARKER, 1999).



**Abbildung 2: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, modifiziert nach JESSEN (2018) und PFARRER ET AL. (2017)**

In der Literatur wird eine chronische Stresssystemaktivierung als Folge länger anhaltender oder in kurzen Abständen immer wiederkehrender, frequenter Stresssituationen beschrieben (BURCHFIELD, 2017; WRIGHT ET AL., 2007). LADEWIG (2000) beschreibt, dass es in Folge entweder zu einer Gewöhnung kommen kann oder aber zu einer verstärkten Stressantwort des Individuums (LADEWIG, 2000). Des Weiteren kann eine chronische Stressbelastung zu einer allostatischen Überbelastung führen, die aufgrund einer Erschöpfung der Adaptation auch pathologische Auswirkungen zur Folge haben kann (MCEWEN UND WINGFIELD, 2003; KOOLHAAS ET AL., 2011).

Ein gut messbarer und folglich wichtiger Parameter zur Beurteilung der Stresssituation eines Individuums ist Cortisol. CARROLL UND BURDICK SANCHEZ (2014) beschreiben Cortisol im Serum beim Rind als einen sensitiven und informativen Biomarker für Stress (CARROLL UND BURDICK SANCHEZ, 2014). In einer Studie von SPORER ET AL. (2018) konnten gezeigt werden, dass die Cortisolkonzentration im Blut von Jungbullen während einer Stressbelastung durch Transport deutlich anstieg (SPORER ET AL., 2008). Bei Frauen wies eine Studie nach, dass ein erhöhter Cortisolwert in der frühen Schwangerschaft das Abortrisiko erhöht (NEPOMNASCHY ET AL., 2006). Es ist davon auszugehen, dass auch bei Kühen ein negativer Einfluss von Stress auf die Fruchtbarkeit besteht.

Ein weiterer interessanter Parameter zur Evaluation von Stressbelastungen ist DHEA, sowie seine sulfatierte Form DHEAS. DHEA ist ein Steroidhormon und die Vorstufe für die Sexualhormone (sowohl Androgene, als auch Estrogene) und entsteht genau wie Cortisol aus dem Prohormon Pregnenolon. Es wird in der Literatur auch als partieller Antagonist zum Stresshormon Cortisol beschrieben (BLAUER ET AL., 1991; CLERICI ET AL., 1997; HU ET AL., 2000). APOSTOLOVA ET AL. (2005) legen dar, dass durch DHEA eine vermehrte Aktivität der Genexpression von 11 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase bedingt wird. Diese Enzymgruppe katalysiert unter anderem die Umsetzung von Cortison in Cortisol (APOSTOLOVA ET AL., 2005). Mit der Sulfatierung zu DHEAS erlangt das DHEA eine längere Plasma Halbwertszeit und eine geringere metabolische Clearance-Rate (ROSENFELD ET AL., 1975).

In der humanen Forschung wurde nachgewiesen, dass eine Erhöhung der DHEA und DHEAS Konzentration im Plasma (LENNARTSSON ET AL., 2012) und ein Anstieg der DHEA-Konzentration im Speichel (IZAWA ET AL., 2008) durch eine akute Stresssituation (psychologische Stresstests) ausgelöst werden kann. Im Gegensatz dazu beschrieben GUILLIAMS und EDWARD (2010) und JECKEL ET AL. (2010) eine erniedrigte DHEA-Konzentration im Blut von Menschen, die einer chronischen Stressbelastung ausgesetzt waren (GUILLIAMS UND EDWARDS, 2010). JECKEL ET AL. (2010) wiesen zusätzlich eine Erhöhung des Cortisol/DHEAS-Quotienten durch chronischen Stress nach (JECKEL ET AL., 2010).

FUSTINI ET AL. (2017) beschrieben, dass Rinder, die einem Stressor (Überbelegung des Stalls) über mehrere Tage hinweg ausgesetzt waren, eine Erhöhung der DHEA Konzentration im Blut aufwiesen (FUSTINI ET AL., 2017). Im Gegensatz dazu beschrieben ALMEIDA ET AL. (2008) ein Absinken der DHEA Blutkonzentration, sowie einen Anstieg des Cortisol/DHEA-Quotienten nach chronischer Klauenentzündung bei Bullen (ALMEIDA ET AL., 2008). Es ist also denkbar, dass die Einwirkdauer der Stressoren/Stimuli einen Einfluss auf den Anstieg oder Abfall von DHEA im Blut hat.

Im vorliegenden Versuchsvorhaben sollen genannte Stressparameter gemessen werden, um zu untersuchen, ob ein Zusammenhang mit einem schlechten Besamungserfolg besteht. Bisher sind uns dazu keine Studien bekannt.

## 2.3 Bedeutung des Immunsystems im bovinen Endometrium

Einen wichtigen Teil des Immunsystems bilden polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN). PMN sind Leukozyten, die im Knochenmark produziert werden und Teil des angeborenen Immunsystems sind. Im Falle einer Infektion migrieren sie in das Gewebe, wo sie Pathogene durch Phagozytose und die Produktion von antimikrobiellen Stoffen bekämpfen können (HUSSAIN, 1989; COORAY UND BJORCK, 1995; MAYADAS ET AL., 2014). Die Infiltration des Endometriums mit PMN weist auch ohne klinische Erscheinungen auf ein entzündliches Geschehen in der Gebärmutter (Endometritis) hin. Fehlen die klinischen Anzeichen einer Endometritis, liegt jedoch der Anteil der PMN im zytologischen Abstrich bei  $\geq 5\%$ , spricht man von einer subklinischen Endometritis (SHELDON ET AL., 2006; WAGENER ET AL., 2017A). Die Uterusgesundheit konnte wiederum mit einem direkten Einfluss auf den Trächtigkeitserfolg assoziiert werden (STRATMAN ET AL., 2016). Für die Beurteilung der PMN ist besonders die Probennahme kurz nach der

Besamung von großem Interesse, da es bisher nur limitierte Erkenntnisse über den Einfluss des Immunstatus der Gebärmutter Schleimhaut auf den Besamungserfolg zu diesem Zeitpunkt gibt.

Auch Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei der angeborenen Immunabwehr. Zytokine, zu denen u. a. Interleukine (z. B. IL1A, IL1B, IL8) und Chemokin-Liganden (z. B. CXCL1/2, CXCL5) zählen, sind kleine Proteine, die die Zellkommunikation vor allem während einer Immunantwort bei Infektion und Trauma regulieren, aber auch bei reproduktionsbiologischen Ereignissen, wie beispielsweise der Ovulation, involviert sind (SHELDON ET AL., 2014; STASSI ET AL., 2017). Durch die Aktivierung von Immunzellen können sie die Verbreitung von Pathogenen verhindern und zu deren Eliminierung beitragen. In zahlreichen Studien konnte festgestellt werden, dass bei einem entzündlichen Geschehen im bovinen Endometrium, das auch mit Sub- bzw. Infertilität bei Kühen in Verbindung gebracht wird, verschiedene Zytokine höher exprimiert werden (GABLER ET AL., 2009; FISCHER ET AL., 2010; PETER ET AL., 2015). Die Untersuchung ihrer endometrialen mRNA Expression im Anschluss an eine Besamung ist bisher nicht bekannt.

Eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit Entzündungen beim Rind spielt auch das Akute Phase Protein Haptoglobin (ECKERSALL, BELL, 2010). Dabei handelt es sich um ein aus der Leber stammendes Glykoprotein. Im Gegensatz zum Menschen, bei dem Haptoglobin von pathologischen wie auch durch verschiedene physiologische Bedingungen beeinflusst wird, steht es beim Rind nicht unter dem Einfluss von Alter, Geschlecht, Trächtigkeit oder Milchleistung und ist unter physiologischen Bedingungen nur in geringen Konzentrationen oder gar nicht nachweisbar. Eine Reihe von Untersuchungen zeigt, dass entzündliche Prozesse beim Rind maßgeblich die Konzentration des Haptoglobins beeinflussen. Dabei reagiert dieses Akute-Phase-Protein infolge akuter entzündlicher Erkrankungen der Lunge, des Euters, der Gebärmutter und des Magen-Darm-Trakts mit einer Erhöhung des Serumspiegels (BRODZKI ET AL., 2015; ABDALLAH ET AL., 2015; SADEK ET AL., 2017). Haptoglobin soll vor und nach Besamung gemessen werden, um eine mögliche Korrelation zum Besamungserfolg zu evaluieren.

## 2.4 Bedeutung von Mucinen für das bovine Endometrium

Mucine sind der strukturgebende Anteil des Schleims, welcher als schützende Auskleidung von Schleimhäuten der inneren Organe, inklusive der Reproduktionsorgane, gebildet wird (BRAYMAN ET AL. 2004). Es handelt sich dabei um anti-adhäsive Glykoproteine, die die Epithelzellschicht bedecken, um vor allem vor bakteriellen Infektionen und proteolytischen Angriffen zu schützen (PLUTA ET AL., 2012). Es wird einerseits vermutet, dass eine hohe Gen-Expression von Mucinen im Puerperium förderlich wäre, um das Eindringen von pathogenen Keimen und die weitergehende Zerstörung des Endometriums zu verhindern.

Auf der anderen Seite ist von anderen Spezies bekannt, dass eine Herabregulierung der Mucin-Expression für eine Blastozysten-Anheftung an das endometriale Epithel erforderlich ist (BOWEN ET AL. 1996; JOHNSON ET AL., 2001). Daher wird Vertretern der Mucin-Familie ein großer Einfluss auf die Implantation des Embryos zugeschrieben (HORNE ET AL., 2005).

In einer aktuelleren Studie konnte gezeigt werden, dass Mucine signifikant höher im Endometrium von Repeat Breeder Cows (RBC; Kühe, bei denen innerhalb einer Laktation mindestens drei erfolglose Besamungen durchgeführt wurden) exprimiert wurden als in Kontroll-Tieren (WAGENER ET AL., 2017B). Für ein besseres Verständnis der Rolle von Mucinen im bovinen Endometrium soll die hier vorliegende Studie neue Erkenntnisse liefern.

## 2.5 Bedeutung der Stoffwechsellage für die Fruchtbarkeit

Mit dem Start in die Laktation überschreitet der Nährstoffbedarf einer modernen Milchkuh ihre Futteraufnahmekapazität, was in einer negativen Energiebilanz (NEB) resultiert, welche wiederum mit einer nachteiligen Beeinflussung der Fertilität in Verbindung gebracht wird (SANTOS ET AL., 2004; EVANS und WALSH, 2011). NEB wurde beispielsweise mit einem späteren Beginn der Ovaraktivität nach der Kalbung assoziiert (BEAM UND BUTTLER, 1997). Bei der NEB werden Körperfettreserven mobilisiert, um Energie bereitstellen zu können, was in erhöhten Blutkonzentrationen von nicht veresterten Fettsäuren (non-esterified fatty acids; NEFA) und beta-Hydroxybutyrat (BHB) resultiert (BUSATO ET AL., 2002 ; ACCORSI ET AL. 2005). NEFA und BHB sind demnach Parameter, mit denen der energetische Status von Milchkühen abgebildet werden kann.

Durch eine erhöhte Blutkonzentration von NEFA und BHB wird auch die Funktionalität des Immunsystems negativ beeinflusst (ESPOSITO ET AL., 2014), denn sowohl NEFA, als auch BHB sind dafür bekannt, dass sie Immunfunktionen stören können (CONTRERAS UND SORDILLO, 2011). Beispielsweise haben NEFA einen negativen Einfluss auf die Freisetzung von reaktivem Sauerstoff durch PMN *in vitro* und *in vivo*, was mit einer verminderten Fähigkeit der PMN einhergeht, bakterielle Infektionen zu bekämpfen (HOEBEN ET AL., 2000; STER ET AL., 2012). Dies untermauert die Beobachtung, dass vor allem hochleistende Milchkühe postpartal gehäuft unter einem geschwächten Immunsystem und der Entwicklung von entzündlichen Erkrankungen leiden (SHELDON ET AL., 2009B). In multiparen Kühen, die eine Woche vor der Abkalbung erhöhte Blutlevel von NEFA aufwiesen, erhöhte sich auch das Risiko an einer klinischen oder subklinischen Endometritis zu erkranken (KAUFMANN ET AL., 2010), die wiederum eng mit Subfertilität und verzögerter Konzeption assoziiert wird (SHELDON ET AL., 2009A; GOBIKRUSHANTH ET AL., 2016).

## 2.6 Bedeutung von Progesteron für den Erhalt der Trächtigkeit

Progesteron ist das vom Gelbkörper gebildete Hormon zur Aufrechterhaltung einer Trächtigkeit. Es gibt eine positive Korrelation zwischen Gelbkörpergröße und Stärke der Gelbkörperdurchblutung und der Menge des produzierten Progesterons. Während der Brunst ist nur sehr wenig oder kein Progesteron im Blut nachweisbar. Der Gehalt steigt während des Zyklus an und sinkt bei nicht tragenden Tieren ab Tag 17 innerhalb von zwei Tagen wieder auf den Basalwert ab. Bei einer Trächtigkeit bleiben die Progesteronwerte nach Tag 19 erhöht. Fällt Progesteron dann allerdings wieder ab, kann dies ein Hinweis für das Vorliegen von embryonaler/fetaler Mortalität (EM/FM) sein. Progesteron soll begleitend zu den transrektalen Trächtigkeitsuntersuchungen gemessen werden.



# 3 Material und Methoden

## 3.1 Projektphasen

### 3.1.1 Vorbereitungsphase

Die Vorbereitungsphase umfasste den Zeitraum vom 03.07.2017 bis 31.07.2017. Nach Erteilung des Forschungsauftrages durch das LfULG wurde die Projektplanung intensiviert und alle notwendigen Details zur Umsetzung des Forschungsvorhabens in die Praxis abgeklärt. Es wurden folgende Vorbereitungen für den Versuchsstart getroffen:

- Auswahl des Milchgutes Bahnitz GmbH für die Versuchsdurchführung
- Schaffung der technischen Voraussetzungen
- Gewährleistung der tierversuchsrechtlichen Voraussetzungen
- Auswahl der Versuchstiere und Aufteilung in Untersuchungsgruppen

### 3.1.2 Durchführungsphase

Nach Abschluss der Vorbereitungen wurde mit der Durchführung des Versuchsvorhabens begonnen. Die Durchführungsphase konnte wie im Zeitplan vorgesehen gestartet werden. Grundlage der Untersuchungen/Probennahmen der Versuchstiere bildete eine gynäkologische Untersuchung, eine Beprobung der Gebärmutterschleimhaut (Uterusabstrich), sowie eine Blutentnahme aus der Schwanzvene (Serum und Plasma). Die MLP-Ergebnisse der aufgenommenen Tiere wurden dokumentiert. Traten zuchthygienische und erkrankungsbedingte Behandlungen der Kühe auf, wurden auch diese festgehalten.

Mindestens 60 Kühe wurden erst nach einer freiwilligen Wartezeit von 120 Tagen p.p. (UG FWZ120) besamt. Die restlichen Tiere wurden nach dem betriebsüblichen Schema ab dem 42 Tag p.p. (UG FWZ42) besamt. Die Durchführungsphase wurde im September 2018 abgeschlossen.

### 3.1.3 Auswertungsphase

An das Ende der Durchführungsphase im September 2018 schloss sich die Auswertungsphase an, die im Mai 2019 beendet wurde. In der Auswertungsphase wurden die genommenen Blut- und Uterusabstrichproben im Labor analysiert und die Ergebnisse statistisch ausgewertet. Die Auswertung der Daten umfasste die statistische Verrechnung mit geeigneten Methoden.

### 3.1.4 Berichterstattung

Die vorliegende Berichterstattung umfasst die Beantwortung folgender Fragestellungen:

- Wie unterscheiden sich Kühe mit unterschiedlich langer FWZ bezüglich der Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ, der Trächtigkeitsrate nach Erstbesamung und des Anteils embryonaler Frühaborte innerhalb der ersten 60 Trächtigkeitstage?
- Unterscheiden sich Kühe mit unterschiedlich langer FWZ (42 vs. 120 Tage) zum Zeitpunkt der ersten Besamung bezüglich ihrer Stressbelastung, der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels und der Gesundheit der Uterusschleimhaut?

- Wie hoch ist im Bestand der Anteil von den in die Untersuchung einbezogenen Kühen, welche am Tag  $38 \pm 3$  p.p. und Tag  $118 \pm 3$  p.p. bzw. zum Zeitpunkt der ersten Besamung, anhand der Blutwerte
  - einer hohen Stressbelastung,
  - einer übermäßig starken Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels bzw. der somatotropen Achse,
  - einer hohen Belastung durch Entzündungsprozesse und
 anhand der Untersuchung der Uterusabstriche
  - einer relevanten Erkrankung/Schädigung der Uterusschleimhaut ausgesetzt sind?
- Korrelieren der Grad der Stressbelastung und der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels sowie die Uterusgesundheit mit der Höhe der Milchleistung und der Körperkondition?
- Unterscheiden sich Kühe, die nach Erstbesamung tragend werden, von denen, die nicht tragend werden bezüglich der Stressbelastung, der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels sowie der Uterusgesundheit?
- Verändert sich die Blutkonzentration von IGF1 im Verlauf einer intakten Trächtigkeit (Tag  $32 \pm 3$  p.i., Tag  $46 \pm 3$  p.i. und Tag  $60 \pm 3$  p.i.)? Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Höhe und ggf. Dynamik dieses Parameters zum Auftreten frühembryonaler Fruchtverluste?
- Ist anhand der untersuchten Parameter im Blut bzw. der Uterusschleimhaut zum Tag  $38 \pm 3$  p.p. eine Prognose zur Fertilität der Kühe möglich?

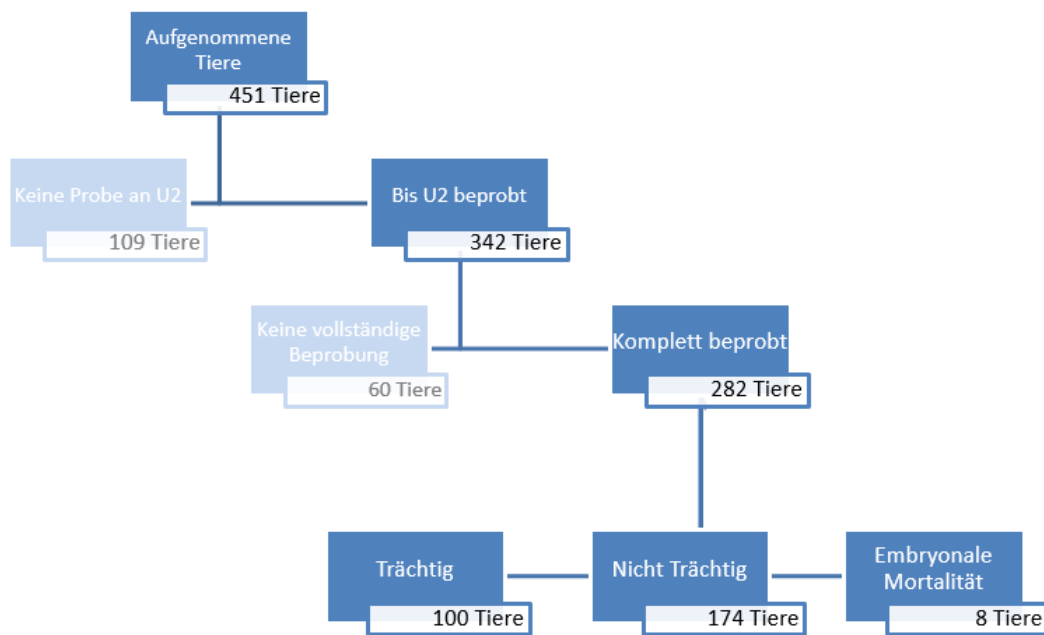
## 3.2 Versuchsbetrieb und Versuchstiere

Alle Proben wurden von Milchkühen des Betriebes Milchgut Bahnitz GmbH in Brandenburg entnommen. Das Versuchsvorhaben wurde zuvor durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Verbraucherschutz und Gesundheit des Landes Brandenburg tierschutzrechtlich geprüft und genehmigt (Aktenzeichen 2347-32-2016).

Es wurden 451 klinisch gesunde, multipare, rotbunte und schwarzbunte Rinder der Rasse Holstein Friesian von der ersten bis zur siebten Laktation in die Studie einbezogen.

Von den 451 in die Studie aufgenommenen Tieren konnte von 342 Tieren eine Probe an Tag 1 p.i. (Untersuchung 2 [U2]) genommen werden. Aufgrund des schmalen Zeitfensters für diesen Probenentwurf konnte bei 109 Kühen zu diesem Zeitpunkt keine Blutprobe entnommen werden.

Von den 342 Tieren mit vorliegender Probe vom Zeitpunkt U2 konnten schließlich 282 komplett nach Versuchsplan probiert werden. Das folgende Fließschema (Abbildung 3) veranschaulicht die Auswahl der Tiere.



**Abbildung 3: Flussdiagramm; Anzahl und Verteilung der in der Studie aufgenommenen Tiere**

Die laktierenden Milchkühe, die in den Versuch aufgenommen wurden, waren an die gegebenen Haltungsbedingungen und an menschlichen Kontakt gewöhnt. Sie wurden in Gruppenhaltung in Laufställen mit Hochliegeboxen gehalten. Eine Unterteilung der Laufställe in Gruppen mit je ca. 120 Tieren erfolgte nach Laktations-, Alters- und Besamungsstand. Die Betonauflflächen waren teilweise mit Gummimatten ausgelegt. Die Reinigung erfolgte über eine automatisierte Faltschieberanlage. Jede Gruppe verfügte über zwei Trogränken und eine Kuhbürste mit Eigenantrieb.

Alle Kühe erhielten eine auf den jeweiligen Reproduktions- und Leistungszustand ausgelegte totale Mischration. Das Futter wurde zwei- bis dreimal täglich mit einem Futtermischwagen vorgelegt und mehrmals am Tag rangeschoben. Zusätzlich standen Salzlecksteine zur Verfügung.

### 3.3 Versuchsaufbau und Probenentnahme

Versuchstiere wurden nach folgendem zeitlichen Ablauf untersucht und beprobt:

#### Untersuchung 1a (U1a):

Kühe, die an Tag  $38 \pm 3$  post partum (p.p.) für eine erneute Trächtigkeit infrage kamen, wurden gynäkologisch (transrektale manuelle Untersuchung, Spekulum vaginal, transrektale Ultraschalluntersuchung) untersucht. Ihnen wurde ein Uterusabstrich mittels Cytobrush/-tape und eine Blutprobe aus der Schwanzvene entnommen, sowie die RFD gemessen (Abbildung 6).

Die UG FWZ42 wurde ab diesem Zeitpunkt der Brunstbeobachtung unterzogen und ab dem 42. Tag p.p. für die Besamung freigegeben.

Von den Tieren der UG FWZ120 wurden ab diesem Zeitpunkt alle Brunsten dokumentiert. Eine Besamung erfolgte jedoch erst ab dem 120. Tag p.p.

#### **Untersuchung 1b (U1b):**

Bei den Tieren der UG FWZ120 (Kennzeichnung mit Halsband, Abbildung 4) wurde am Tag  $118 \pm 3$  p.p. die Untersuchung, wie vorhergehend für Tag  $38 \pm 3$  p.p. beschrieben, noch einmal wiederholt.

Bei allen Tieren beider UG wurde an Tag  $118 \pm 3$  p.p. eine RFD-Messung per Ultraschall durchgeführt (Abbildung 7).

#### **Untersuchung (U2):**

Jeweils am Tag 1 nach der ersten Besamung (post inseminationen = p.i.) wurden alle Kühe wiederholt der gynäkologischen Untersuchung unterzogen und es wurde ein Uterusabstrich und eine Blutprobe entnommen.

#### **Untersuchung (U3):**

An Tag  $18 \pm 3$  p.i. wurde eine Blutprobenentnahme und RFD-Messung durchgeführt.

#### **Trächtigkeitsuntersuchungen 1, 2 und 3 (TU1, TU2 und TU3):**

An Tag  $32 \pm 3$  p.i. (TU1), Tag  $46 \pm 3$  p.i. (TU2) und Tag  $60 \pm 3$  p.i. (TU3) wurde jeweils eine transrektale Trächtigkeitsuntersuchung (TU) mittels Ultraschall durchgeführt (Abbildung 5). Zu diesen Zeitpunkten wurde auch jeweils eine Blutprobe entnommen. Jedes Studientier wurde bei der TU1 als tragend (t) oder nicht tragend (nt) diagnostiziert. Acht Tiere, die bei der TU1 als tragend (physiologisch entwickelter Embryo in Fruchtwasser mit Herzschlag und intakten Fruchthüllen) diagnostiziert wurden, bei der TU2 oder TU3 allerdings keine Trächtigkeit mehr nachgewiesen werden konnte, wurden der Gruppe embryonale/fetale Mortalität (EM/FM) zugeordnet. Somit konnte der Anteil erzeugter Trächtigkeiten und das Auftreten von EM/FM untersucht werden.

#### **Sterilitätsuntersuchungen (StU1a (UG FWZ 42) und StU1b (UG FWZ 120)):**

Alle Kühe, für welche 60 Tage nach Ende der freiwilligen Wartezeit keine Brunst bzw. Besamung dokumentiert wurde, wurden zu diesem Zeitpunkt einer gynäkologischen Untersuchung unterzogen und es wurden ein Uterusabstrich sowie eine Blutprobe genommen.



**Abbildung 4: Kennzeichnung einer Kuh mit einem Halsband für die UG FWZ120 Tage,  
Foto: Anja Peters, IFN**

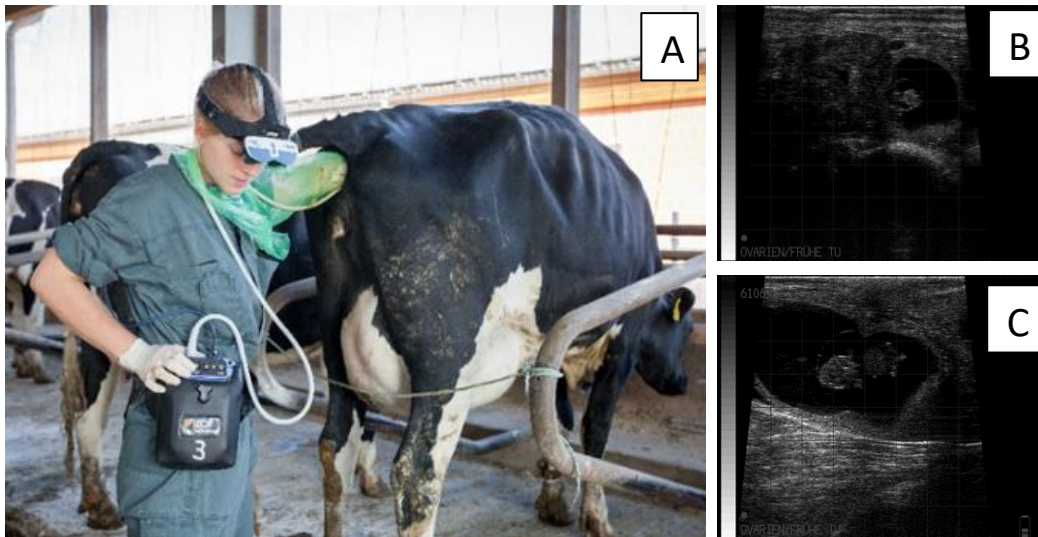


Abbildung 5: Ultrasonographische Untersuchung, B: TU Tag 33 p.i., C: TU Tag 46 p.i.,  
Foto: Anja Peters, IFN

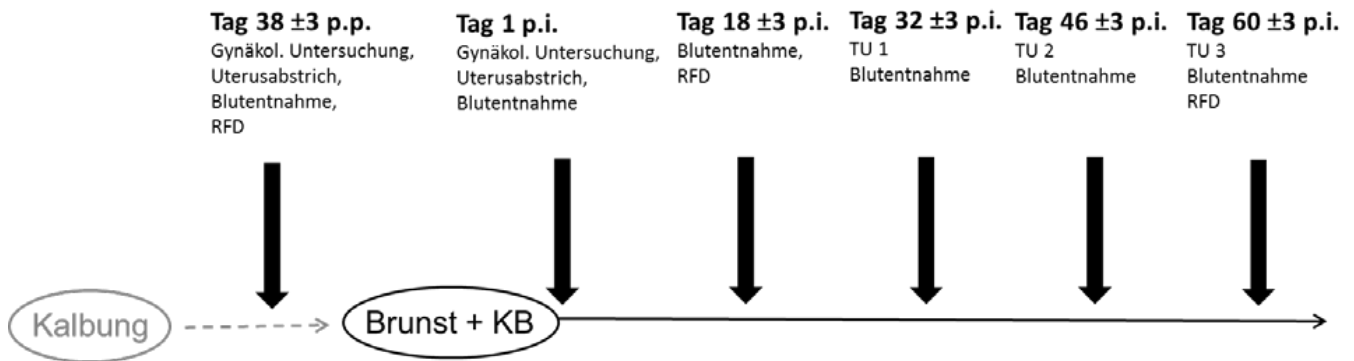


Abbildung 6: Zeitstrahl UG FWZ42 (exklusive StU1a)



Abbildung 7: Zeitstrahl UG FWZ120 (exklusive StU1b); nach KB identische Untersuchungen zur UG FWZ42

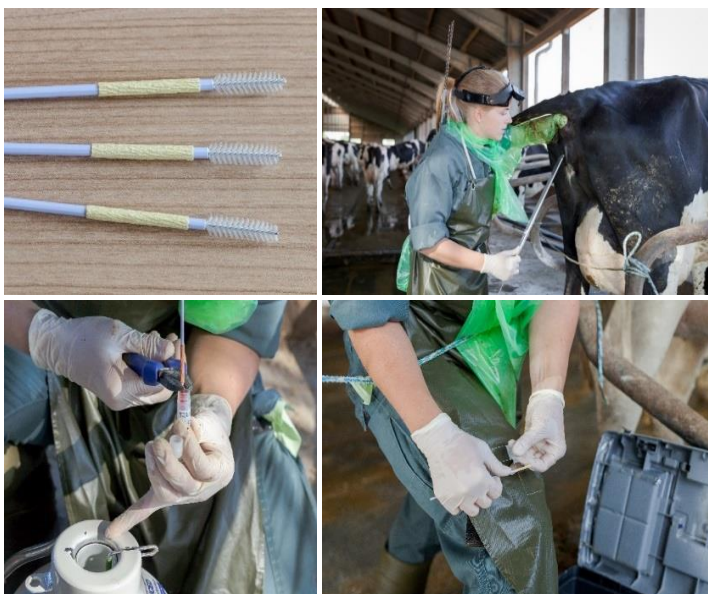
Die Blutprobenentnahme erfolgte mit einer Einmalkanüle aus der Schwanzvene in 8-ml-Serum- und 9-ml-EDTA-Blutprobenröhrchen. Anschließend wurden die Proben bei Raumtemperatur für 10 min bei 4000 x g zentrifugiert. Je 1,5 ml Serum und Plasma wurden in 2-ml-Reaktionsgefäße pipettiert und bei -20 °C bis zur Analyse gelagert (Abbildung 8).





**Abbildung 8: Fotos der Entnahme und Verarbeitung der Blutproben, Fotos: Anja Peters, IFN**

Die Uterusabstriche wurden mittels Cytobrushtechnik entnommen. Dafür wurden die Bürstchen zusätzlich mit einem 1,5 cm breiten Kreppband (Cytotape) versehen, welches direkt hinter dem Bürstchen um den Bürstchenstab geklebt wurde (Abbildung 9). Die Bürstchen wurden auf einen dünnen Metallstab aufgeschraubt und durch einen mit einer Hygienehülle geschützten Alukatheter durch den Muttermund bis in die Gebärmutter vorgeschoben. Dort wurde das Bürstchen inklusive des Kreppbandes 2-3 Mal im Uhrzeigersinn an der Gebärmutterschleimhaut entlanggerollt. Für die Probenentnahme wurde die Vulva der Kühe mit trockenen Papiertüchern gereinigt. Das Bürstchen wurde mit einem Seitenschneider in ein Kryoröhrchen abgeknipst und in flüssigem Stickstoff bis zur Analyse der mRNA-Expression gelagert. Das Kreppband wurde auf einem Objektträger abgerollt (Abbildung 9). Anschließend wurde dieser für das Auszählen des Anteiles endometrialer PMN mit einer Pappenheim-Färbung angefärbt.



**Abbildung 9: Fotos der Entnahme und Verarbeitung der Uterusabstriche, Fotos: Anja Peters, IFN**

### 3.3.1 Auswahl der Parameter

Folgende Parameter wurden ausgewählt, da eine Abhängigkeit zum Besamungserfolg bzw. EM/FM vermutet wird:

#### Blutproben:

- Parameter der somatotropen Achse (IGF1)
- Stoffwechselfparameter (NEFA, BHB)
- Entzündungsparameter (Haptoglobin)
- Stressparameter (DHEA, Cortisol)
- Trächtigkeitserhalt (P4)

#### Uterusabstriche:

- PMN
- mRNA-Expression
  - von Zytokinen (*IL1A*, *IL1B*, *IL8*, *CXCL1/2*, *CXCL5*)
  - von Mucinen (*MUC4* und *MUC12*)
  - von *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA*

Zusätzlich zu diesen mit dem IFN Schönow e. V. (Leistungsbeschreibung) vereinbarten Parametern wurden folgende Parameter ausgewertet:

#### Blutproben:

- Parameter der somatotropen Achse (IGFBP2, IGFBP3, IGFBP4)
- Stressparameter (DHEAS)

#### Uterusabstriche:

- mRNA-Expression
  - des Zytokins *CXCL3*

### 3.3.2 Zuordnung der Parameter zu den Untersuchungszeitpunkten

Die ausgewählten Parameter wurden den Untersuchungszeitpunkten folgendermaßen zugeordnet.

#### U1a (Tag 38 ± 3 p.p.)

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, Haptoglobin  
Uterusabstrich: PMN, mRNA-Expression

#### U1b (Tag 118 ± 3 p.p.)

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, Haptoglobin  
Uterusabstrich: PMN, mRNA-Expression

### U2 (Tag 1 p.i.)

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, Haptoglobin, NEFA, BHB  
Uterusabstrich: PMN, mRNA-Expression

### U3 (Tag 18 ± 3 p.i.)

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, NEFA, BHB

### TU1 (Tag 32 ± 3 p.i.)

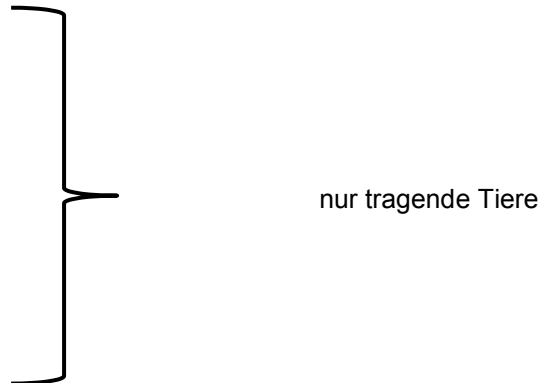
Blutprobe: IGF1, P4

### TU2 (Tag 46 ± 3 p.i.)

Blutprobe: IGF1, P4

### TU 3 (Tag 60 ± 3 p.i.)

Blutprobe: IGF1, P4



### StU1a

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, Haptoglobin, NEFA, BHB  
Uterusabstrich: PMN, mRNA-Expression

### StU1b

Blutprobe: IGF1, DHEA, Cortisol, Haptoglobin, NEFA, BHB  
Uterusabstrich: PMN, mRNA-Expression

Die in den Blutproben durchzuführenden Untersuchungen wurden mit geeigneten Methoden im Endokrinologischen Labor und im Klinischen Labor der Klinik für Rinder, Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Die Uterusabstriche wurden am Institut für Veterinär-Biochemie der Freie Universität Berlin mit geeigneten Methoden untersucht.

## 3.4 Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mit Excel dargestellt und aufbereitet. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS (IBM SPSS Statistics Version 25). Für die Signifikanzangaben gilt folgendes:

$p < 0,10$ : statistische Tendenz

$p < 0,05$ : statistische Signifikanz

Die Daten wurden zunächst mithilfe des Kolmogorov-Smirnov- und des Shapiro-Wilk-Testes auf Normalverteilung getestet. Für Gruppenvergleiche von mehr als zwei Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Ergab sich dabei eine globale Signifikanz von  $p < 0,05$ , wurde der Mann-Whitney-U-Test für den Vergleich von jeweils zwei Gruppen untereinander angewendet. Verlaufsmessungen über mehr als zwei Untersuchungszeitpunkte wurden zunächst mit dem Friedman-Test untersucht. Ergab sich mit dem Friedman-Test eine globale Signifikanz von  $p < 0,05$ , wurden die Verläufe zwischen jeweils zwei Untersuchungszeitpunkten mit dem Wilcoxon-Test untersucht. Die zuge-



hörigen graphischen Darstellungen erfolgten bei Gruppenvergleichen und über den Verlauf mehrerer Untersuchungszeitpunkte mit Boxplots. Die Verteilung der Tierzahlen in den beiden UGs FWZ42 und FWZ120 bezüglich der EBR60, des EBE und dem Anteil der EM/FM wurden mit dem Chi-Quadrat-Test bzw. dem exakten Fisher-Test auf Signifikanz getestet. Korrelationen wurden mithilfe des Spearman-Rho-Tests untersucht und die zugehörige graphische Darstellung erfolgte mit Streudiagrammen. Eine Orientierung zur Bewertung der Korrelationskoeffizienten gibt die nachfolgende Tabelle 1.

**Tabelle 1: Orientierung zur Bewertung der Korrelationskoeffizienten**

Korrelationskoeffizient	Bewertung des Korrelationskoeffizienten
$\leq 0,2$	keine Korrelation
$> 0,2$ bis $\leq 0,5$	schwache bis mäßige Korrelation
$> 0,5$ bis $\leq 0,8$	starke Korrelation
$> 0,8$ bis $\leq 1,0$	perfekte Korrelation

# 4 Ergebnisse

## 4.1 Fruchtbarkeitsergebnisse bei unterschiedlicher FWZ

### Vollständige Fragestellung:

Wie unterscheiden sich Kühe mit unterschiedlich langer FWZ bezüglich der Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ, der Trächtigkeitsrate nach Erstbesamung und des Anteils embryonaler Frühaborte innerhalb der ersten 60 Trächtigkeitstage?

### Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ (EBR60):

Die Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ (EBR60) beschreibt den Anteil an Kühen in den zwei verschiedenen Untersuchungsgruppen (UG FWZ42 und UG FWZ120), die innerhalb der ersten 60 Tage nach Beendigung der FWZ besamt wurden.

Von den 451 in die Studie aufgenommenen Tieren lagen bei 344 Tieren Daten zur Rastzeit (beschreibt die Zeit zwischen Kalbung und erster Besamung) vor. Davon gehörten 284 Tiere in die UG FWZ42 und 60 Tiere in die UG FWZ120. Von den 284 Tieren der UG FWZ42 wurden 262 Tiere (92,3 %) innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ und 22 Tiere (7,7 %) außerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ besamt. Von den 60 Tieren der UG FWZ120 wurden alle Tiere innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ besamt (100%) (Tabelle 2). Die Verteilung der Tiere in die UGs FWZ42 und FWZ120 bezüglich der EBR60 war signifikant unterschiedlich ( $p = 0,019$ ).

**Tabelle 2: Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ der UG FWZ42 und FWZ120**

	UG FWZ42	UG FWZ120
N	284	60
EB innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ erfolgt [n]	262	60
EB innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ nicht erfolgt [n]	22	0
<b>EBR60 [%]</b>	<b>92,3</b>	<b>100</b>

### Trächtigkeitsrate nach Erstbesamung = Erstbesamungserfolg (EBE):

Alle Kühe, bei denen ein Trächtigkeitsergebnis vorlag, wurden für die Berechnung des Erstbesamungserfolges (EBE) herangezogen. Dazu zählen auch Kühe, die nicht komplett nach Untersuchungsschema beprobt wurden.

Von den 451 in die Studie aufgenommenen Tieren lag bei 329 ein Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung vor. Davon gehörten 59 Kühe in die UG FWZ120, von denen 24 Tiere tragend und 35 Tiere nicht-tragend waren (Abbildung 10). In der UG FWZ42 lag bei 270 Kühen ein TU-Ergebnis vor. Davon waren 82 Tiere tragend, 180 Tiere nicht-tragend und bei 8 Tieren war Embryonale Mortalität nachweisbar (Abbildung 10).

Demnach lag der EBE in der UG FWZ42 bei 30,4 %, der EBE in der UG FWZ120 bei 40,7 % (Tabelle 3). Die Verteilung der Tiere in die UG FWZ42 und FWZ120 bezüglich des EBE war nicht signifikant unterschiedlich ( $p = 0,125$ ).

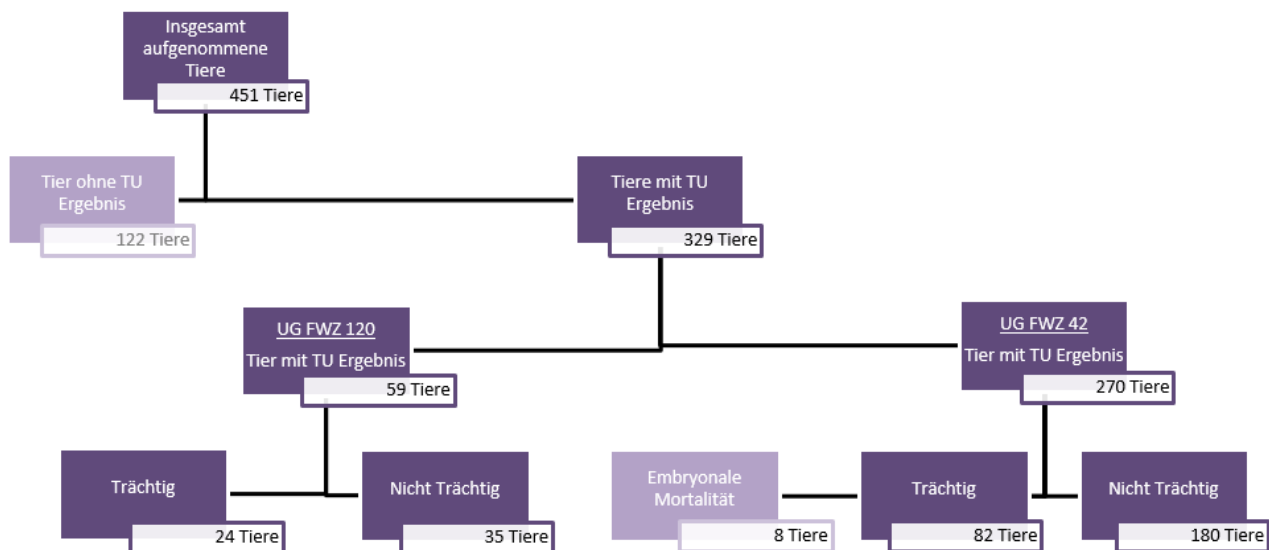


Abbildung 10: Flussdiagramm; Tierzahlen für die Berechnung des Erstbesamungserfolges

Tabelle 3: Erstbesamungserfolg der beiden Wartezeitgruppen UG FWZ42 und FWZ120

	UG FWZ42	UG FWZ120
n	270	59
EB erfolgreich [n]	82	24
EB nicht erfolgreich [n]	188	35
<b>EBE [%]</b>	<b>30,4</b>	<b>40,7</b>

#### Anteil embryonaler Frühaborte innerhalb der ersten 60 Trächtigkeitstage (embryonale/fetale Mortalitäten):

EM/FM konnten nicht für die gesamten ersten 60 Trächtigkeitstage ermittelt werden. Der Versuchsaufbau ließ lediglich eine Untersuchung der Zeitspanne von Tag  $32 \pm 3$  p.i. bis Tag  $60 \pm 3$  p.i. zu. Innerhalb dieser Zeitspanne konnten EM/FM nur innerhalb der UG FWZ42 nachgewiesen werden. Diese acht nachgewiesenen Mortalitäten fanden alle zwischen TU1 (Tag  $32 \pm 3$  p.i.) und TU2 (Tag  $46 \pm 3$  p.i.) statt und sind somit eher den EM zuzuordnen, da sich die Embryonalphase über die ersten ca. 42 Trächtigkeitstage erstreckt. Nachfolgend wird die Gruppe EM/FM daher mit EM betitelt.

Somit lag der Anteil der EM an den Trächtigkeiten (trächtig an TU1; n = 90) in der UG FWZ42 bei 8,9 %. In der UG FWZ120 wurden keine Fruchtplurverluste innerhalb der Zeitspanne von Tag  $32 \pm 3$  p.i. bis Tag  $60 \pm 3$  p.i. (TU1 bis TU3) nachgewiesen (Tabelle 4). Die Verteilung der Tiere in die UGs FWZ42 und FWZ120 bezüglich des Auftretens von EM/FM war nicht signifikant unterschiedlich ( $p = 0,2$ ).

**Tabelle 4: Anteil embryonaler/fetaler Mortalitäten in den beiden Wartezeitgruppen UG FWZ42 und FWZ120**

	UG FWZ42	UG FWZ120
n	90	24
EM/FM nachweisbar [n]	8	0
EM/FM nicht nachweisbar [n]	82	24
<b>EM/FM [%]</b>	<b>8,9</b>	<b>0</b>

## 4.2 Blut- und Uterusparameter bei unterschiedlicher FWZ

### Vollständige Fragestellung:

Unterscheiden sich Kühe mit unterschiedlich langer FWZ (42 vs. 120 Tage) zum Zeitpunkt der ersten Besamung bezüglich ihrer Stressbelastung, der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels und der Gesundheit der Uterusschleimhaut?

Für die Beurteilung der Stressbelastung, der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels und der Gesundheit der Uterusschleimhaut bei Tieren mit unterschiedlich langer FWZ (42 vs. 120 Tage) zum Zeitpunkt der ersten Besamung wurden alle Tiere in die Auswertung einbezogen, die innerhalb von 60 Tagen nach Beendigung der FWZ erstbesamt wurden.

Jeweils an Tag 1 p.i. wurden die Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, die Serumkonzentrationen von NEFA, BHB, DHEA, DHEAS und Cortisol, der Cortisol/DHEA-Quotient, die endometriale mRNA-Expression von *CXCL1/2*, *CXCL3*, *CXCL5*, *IL1A*, *IL1B*, *IL8*, *MUC4*, *MUC12*, *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA* und der endometriale PMN-Anteil untersucht.

Signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) ergaben sich bei den Plasmakonzentrationen von IGF1 (Abbildung 11) und Haptoglobin (Abbildung 12) den Serumkonzentrationen von NEFA (Abbildung 13), BHB (Abbildung 14) und DHEAS (Abbildung 15) und dem endometrialen Anteil der PMN (Abbildung 16). Tabelle 5 zeigt die Medianwerte an Tag 1 p.i. und den Signifikanzwert (p-Wert).

**Tabelle 5: Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, der Serumkonzentrationen von NEFA, BHB und DHEAS und des endometrialen Anteils der PMN an Tag 1 p.i. in den UG FWZ42 und FWZ120 und p-Werte**

	UG FWZ42	UG FWZ120	p-Wert
IGF1 [ng/ml]	103,41	121,39	0,004
Haptoglobin [ng/ml]	1.984,88	553,63	<0,001
NEFA [ $\mu$ mol/l]	204,00	180,50	0,028
BHB [mmol/l]	0,70	0,61	0,037
DHEAS [ng/ml]	1,58	2,06	<0,001
endometriale PMN [%]	0,5	1,25	0,008

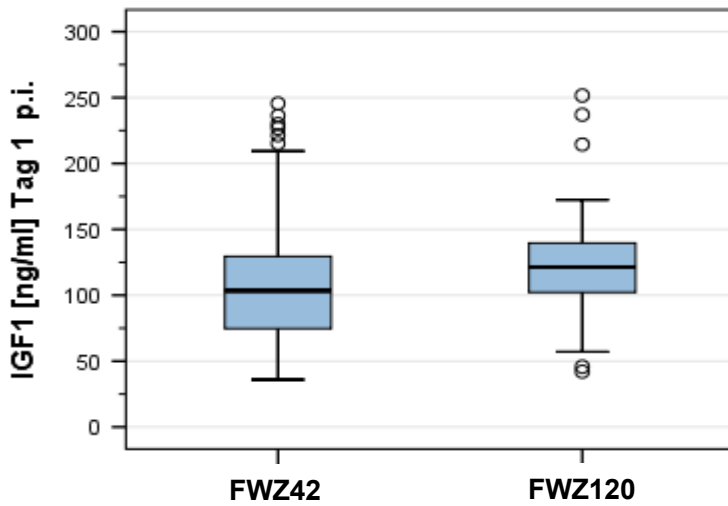


Abbildung 11: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IGF1 in den UG FWZ42 und FWZ120

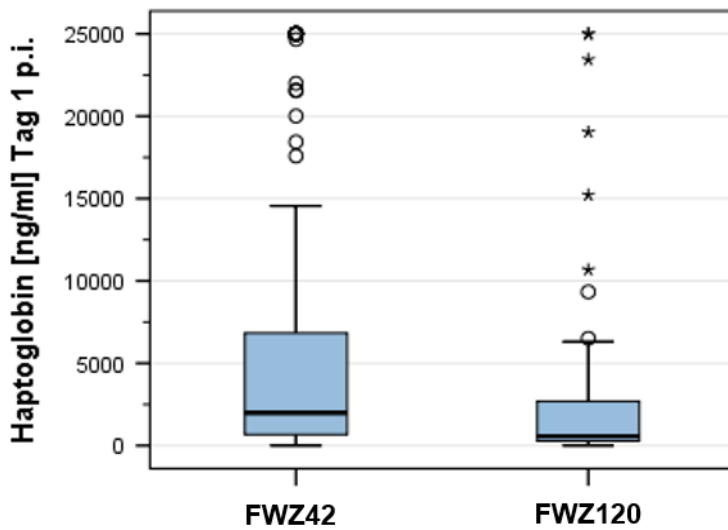


Abbildung 12: Boxplots; Plasmakonzentrationen von Haptoglobin in den UG FWZ42 und FWZ120

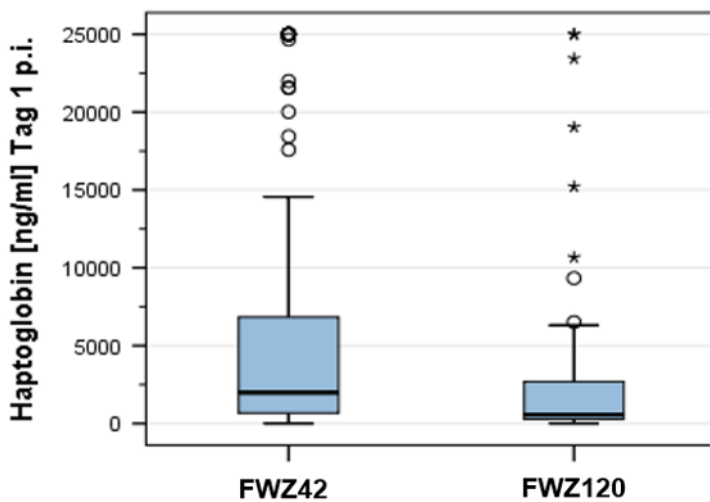


Abbildung 13: Boxplots; Serumkonzentrationen von NEFA in den UG FWZ42 und FWZ120

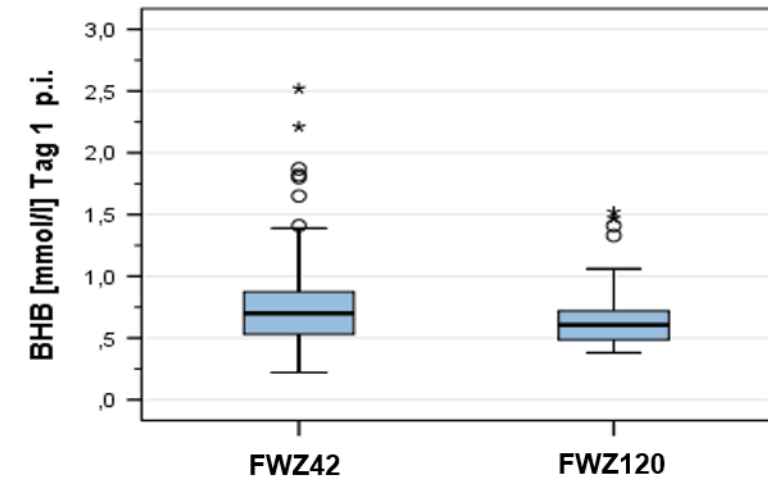


Abbildung 14: Boxplots; Serumkonzentrationen von BHB in den UG FWZ42 und FWZ120

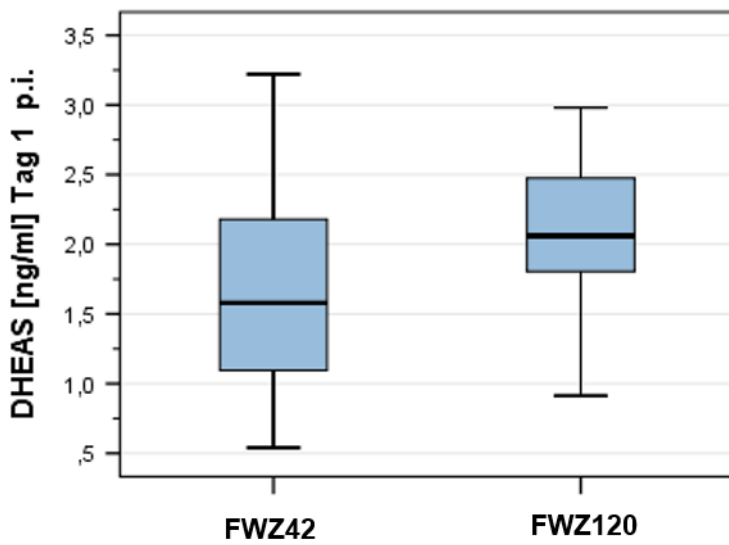


Abbildung 15: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEAS in den UG FWZ42 und FWZ120

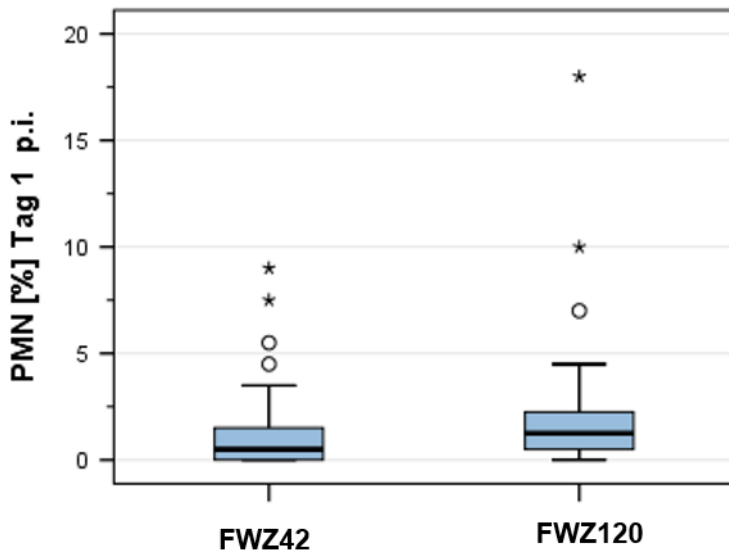


Abbildung 16: Boxplots; Endometrialer Anteil der PMN in den UG FWZ42 und FWZ120

## 4.3 Anteil von Kühen mit hoher Belastung

### Vollständige Fragestellung:

Wie hoch ist im Bestand der Anteil von den in die Untersuchung einbezogenen Kühen, welche am Tag  $38 \pm 3$  p.p. und Tag  $118 \pm 3$  p.p. bzw. zum Zeitpunkt der ersten Besamung:

- anhand der Blutwerte
  - einer hohen Stressbelastung,
  - einer übermäßig starken Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels bzw. der somatotropen Achse
  - einer hohen Belastung durch Entzündungsprozesse und
- anhand der Untersuchung der Uterusabstriche
  - einer relevanten Erkrankung/Schädigung der Uterusschleimhaut ausgesetzt sind?

Für die Beantwortung dieser Fragestellung wurden folgende Parameter ausgewählt:

Stressbelastung:	Cortisol [ng/ml Blutserum]
Energie- und Leberstoffwechselbelastung:	NEFA [ $\mu$ mol/l Blutserum] BHB [mmol/l Blutserum]
Belastung der somatotropen Achse:	IGF1 [ng/ml Blutplasma]
Belastung durch Entzündungsprozesse:	Haptoglobin [ng/ml Blutplasma]
Relevante Erkrankung der Uterusschleimhaut:	endometriale PMN [%]

Der Grenzwert für PMN konnte der Literatur entnommen werden. Ein Anteil von endometrialen PMN  $\geq 5\%$  entspricht einer relevanten Entzündung der Uterusschleimhaut (WAGENER ET AL., 2017A).

Für die Festlegung der Grenzwerte von Cortisol, NEFA, BHB und Haptoglobin wurde anhand der Gesamtheit aller Messungen, die im Versuchszeitraum stattgefunden haben, das 75%-Quantil festgelegt (Tabelle 6). Oberhalb dieses Quantils liegen 25 % der Stichproben, die einer hohen Belastung zugeordnet wurden.

Für die Festlegung der Grenzwerte von IGF1 wurde anhand der Gesamtheit aller Messungen, die im Versuchszeitraum stattgefunden haben, das 25%-Quantil festgelegt (Tabelle 7). Unterhalb dieses Quantils liegen 25 % der Stichproben, die einer hohen Belastung zugeordnet wurden.

**Tabelle 6: Anzahl der Messungen zur Serumkonzentrationen von Cortisol, NEFA, BHB und Haptoglobin und das 75%-Quantil zur Festlegung eines Grenzwertes**

	Anzahl der Messungen [n]	Grenzwert 75%-Quantil
Cortisol [ng/ml]	1.012	12,2
NEFA [ $\mu$ mol/l]	605	214
BHB [mmol/l]	605	0,83
Haptoglobin [ng/ml]	813	4.297

**Tabelle 7: Anzahl der Messungen zur Plasmakonzentration von IGF1 und das 25%-Quantil zur Festlegung eines Grenzwertes**

	Anzahl der Messungen [n]	Grenzwert 25%-Quantil
IGF1 [ng/ml]	1.268	83,19

In der UG FWZ42 lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 10,28 % der Kühe oberhalb des festgelegten Grenzwertes für Cortisol. Bis zum Tag 1 p.i. reduzierte sich dieser Anteil auf 5,04 % (Tabelle 8). Messwerte für die Stoffwechselfparameter NEFA und BHB waren für die UG FWZ42 nur an Tag 1 p.i. vorhanden. Oberhalb des Grenzwertes lagen zu diesem Zeitpunkt 16,36 % der Tiere bezüglich der NEFA Konzentration und 11,9 % der Tiere bezüglich der BHB Konzentration (Tabelle 8). Oberhalb des festgelegten Grenzwertes für Haptoglobin lagen in der UG FWZ42 5,52 % der Tiere an Tag 38 ± 3 p.p. und 7,01 % der Tiere an Tag 1 p.i. (Tabelle 8). Bezüglich des Anteiles endometrialer PMN lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 2,13 % der Tiere und an Tag 1 p.i. 1,07 % der Tiere oberhalb des Grenzwertes (Tabelle 8). In der UG FWZ42 lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 7,85 % der Kühe unterhalb des festgelegten Grenzwertes für IGF1. Bis zum Tag 1 p.i. reduzierte sich dieser Anteil auf 6,14 % (Tabelle 9).

**Tabelle 8: Anteil der Kühe oberhalb des 75%-Quantils für Cortisol, NEFA, BHB, Haptoglobin und PMN in % an Tag 38 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ42**

	Anteil der Kühe [%] oberhalb des Grenzwertes an Tag 38 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] oberhalb des Grenzwertes an Tag 1 p.i.
Cortisol [ng/ml]	10,28	5,04
NEFA [µmol/l]	n.a.	16,36
BHB [mmol/l]	n.a.	11,9
Haptoglobin [ng/ml]	5,54	7,01
endometriale PMN [%]	2,13	1,07

n.a. = nicht ausgewertet

**Tabelle 9: Anteil der Kühe unterhalb des 25%-Quantils für IGF1 in % an Tag 38 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ42**

	Anteil der Kühe [%] unterhalb des Grenzwertes an Tag 38 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] unterhalb des Grenzwertes an Tag 1 p.i.
IGF1 [ng/ml]	7,85	6,14

In der UG FWZ120 lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 3,36 % der Kühe oberhalb des festgelegten Grenzwertes für Cortisol. Bis zum Tag 118 ± 3 p.p. reduzierte sich dieser Anteil auf 1,38 % und auf 0,79 % an Tag 1 p.i. (Tabelle 10). Messwerte für die Stoffwechselfparameter NEFA und BHB waren für die UG FWZ120 ebenfalls nur an Tag 1 p.i. vorhanden. Oberhalb des Grenzwertes lagen zu diesem Zeitpunkt 2,64 % der Tiere bezüglich der NEFA Konzentration und 1,65 % der Tiere bezüglich der BHB Konzentration (Tabelle 10). Oberhalb des festgelegten Grenzwertes für Haptoglobin lagen in der UG FWZ120 1,72 % der Tiere an Tag 38 ± 3 p.p., 1,35 % der Tiere an Tag 118 ± 3 p.p. und ebenfalls 1,35 % der Tiere an Tag 1 p.i. (Tabelle 10). Bezüglich des Anteiles endometrialer PMN lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 0,27 % der Tiere, an Tag 118 ± 3 p.p. 0,0 % der Tiere und an Tag 1 p.i. 0,8 % der Tiere oberhalb des Grenzwertes (Tabelle 10). In der UG FWZ120 lagen an Tag 38 ± 3 p.p. 1,94 %, an Tag 118 ± 3 p.p. 0,54 % und an Tag 1 p.i. 0,47 % der Kühe unterhalb des festgelegten Grenzwertes für IGF1 (Tabelle 11).



**Tabelle 10: Anteil der Kühe oberhalb des 75%-Quantils für Cortisol, NEFA, BHB, Haptoglobin und PMN in % an Tag 38 ± 3 p.p., Tag 118 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ120**

	Anteil der Kühe [%] oberhalb des Grenzwertes an Tag 38 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] oberhalb des Grenzwertes an Tag 118 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] oberhalb des Grenzwertes an Tag 1 p.i.
Cortisol [ng/ml]	3,36	1,38	0,79
NEFA [µmol/l]	n.a.	n.a.	2,64
BHB [mmol/l]	n.a.	n.a.	1,65
Haptoglobin [ng/ml]	1,72	1,35	1,35
endometriale PMN [%]	0,27	0,0	0,8

n.a. = nicht ausgewertet

**Tabelle 11: Anteil der Kühe unterhalb des 25%-Quantils für IGF1 in % an Tag 38 ± 3 p.p., Tag 118 ± 3 p.p. und Tag 1 p.i. in der UG FWZ120**

	Anteil der Kühe [%] unterhalb des Grenzwertes an Tag 38 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] unterhalb des Grenzwertes an Tag 118 ± 3 p.p.	Anteil der Kühe [%] unterhalb des Grenzwertes an Tag 1 p.i.
IGF1 [ng/ml]	1,94	0,54	0,47

## 4.4 Korrelation der Parameter mit Milchleistung und Körperkondition

### Vollständige Fragestellung:

Korrelieren der Grad der Stressbelastung und der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels sowie die Uterusgesundheit mit der Höhe der Milchleistung und der Körperkondition?

Für die Beantwortung dieser Fragestellung wurden die Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, die Serumkonzentrationen von DHEA, DHEAS und Cortisol, der Cortisol/DHEA-Quotient, die endometriale mRNA-Expression von *CXCL1/2*, *CXCL3*, *CXCL5*, *IL1A*, *IL1B*, *IL8*, *MUC4*, *MUC12*, *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA* und der endometriale PMN-Anteil, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p., zur Milchleistung der ersten 100 Tage in kg (ML100 [kg]) und zur Rückenfettdicke in mm (RFD [mm]) an Tag 38 ± 3 p.p. korreliert.

Eine schwache Korrelation konnte für die in der folgenden Tabelle 12 aufgeführten Parameter gezeigt werden. Die Abbildung 17 und die Abbildung 18 zeigen die zugehörigen Streudiagramme.

Des Weiteren wurden die Serumkonzentrationen von NEFA und BHB an Tag 1 p.i. jeweils zur ML100 [kg] korreliert und die Serumkonzentrationen von NEFA und BHB an Tag 18 ± 3 p.i. wurden jeweils zur RFD [mm] an Tag 18 ± 3 p.i. korreliert. Dabei konnte keine Korrelation gezeigt werden.

**Tabelle 12: Signifikante Korrelationskoeffizienten der 100-Tage-Milchleistung und der Rückenfettdicke an Tag 38 ± 3 p.p. zu IGF1 und Cortisol, dem Cortisol/DHEA-Quotienten und der endometrialen mRNA-Expression von *IL1A* und *PAPPA* jeweils an Tag 38 ± 3 p.p.**

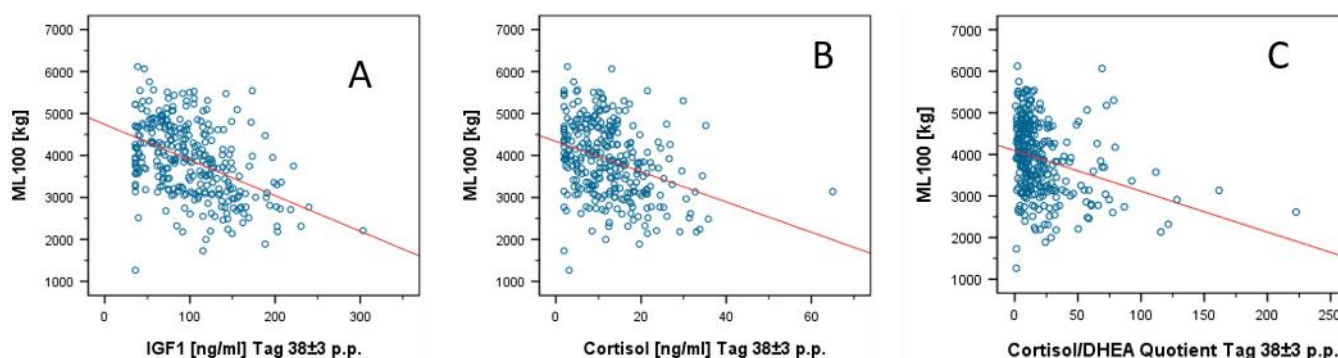
	ML100 [kg]	RFD [mm] an Tag 38 ± 3 p.p.
IGF1 [ng/ml] an Tag 38 ± 3 p.p.	-0,445**	0,259**
Cortisol [ng/ml] an Tag 38 ± 3 p.p.	-0,341**	
Cortisol/DHEA-Quotient an Tag 38 ± 3 p.p.	-0,327**	
<i>IL1A</i> (normalisierte Expression) an Tag 38 ± 3 p.p.		-0,272*
<i>PAPPA</i> (normalisierte Expression) an Tag 38 ± 3 p.p.		-0,266*

Bei einer Kennzeichnung mit \*\* ist die Korrelation auf dem 0,01 Niveau signifikant.

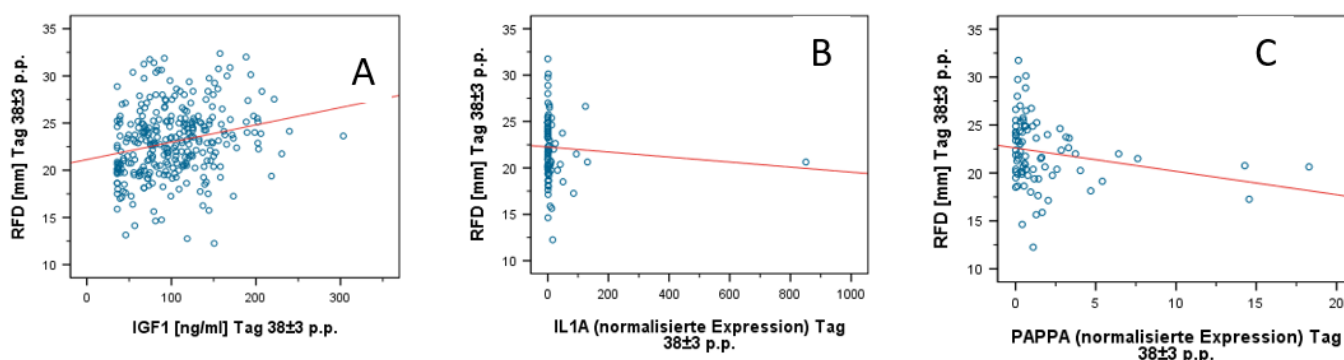
Bei einer Kennzeichnung mit \* ist die Korrelation auf dem 0,05 Niveau signifikant.

Wenn keine signifikante Korrelation beobachtet werden konnte, wurde kein Wert eingetragen.

Eine Orientierung zur Bewertung der Korrelationskoeffizienten gibt Tabelle 1.



**Abbildung 17: Streudiagramme; Korrelationen der 100-Tage-Milchleistung zu (A) der Blutplasmakonzentration von IGF1, (B) der Blutserumkonzentration von Cortisol und (C) dem Cortisol/DHEA-Quotient, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p.**



**Abbildung 18: Streudiagramme; Korrelationen der Rückenfettdicke an Tag 38 ± 3 p.p. zu (A) der Blutplasmakonzentration von IGF1 und der normalisierten mRNA Expression von (B) *IL1A* und (C) *PAPPA*, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p.**

## 4.5 Abhängigkeit zum Trächtigkeitsstatus

Unterscheiden sich Kühe, die nach Erstbesamung tragend werden, von denen, die nicht tragend werden bezüglich der Stressbelastung, der Belastung des Energie- und Leberstoffwechsels sowie der Uterusgesundheit? Für die Beantwortung dieser Fragestellung wurden alle untersuchten Parameter, unterteilt nach UG FWZ42 und UG FWZ120, zu den jeweilig vorhandenen Untersuchungszeitpunkten nach Gruppen (t, nt und EM) aufgeteilt. Untersuchungen auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM) wurden an den jeweiligen Zeitpunkten durchgeführt.

In den nachfolgenden Tabelle 13 bis Tabelle 24 werden die Medianwerte derjenigen Parameter aufgeführt, bei denen signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen an mindestens einem Zeitpunkt gemessen werden konnten.

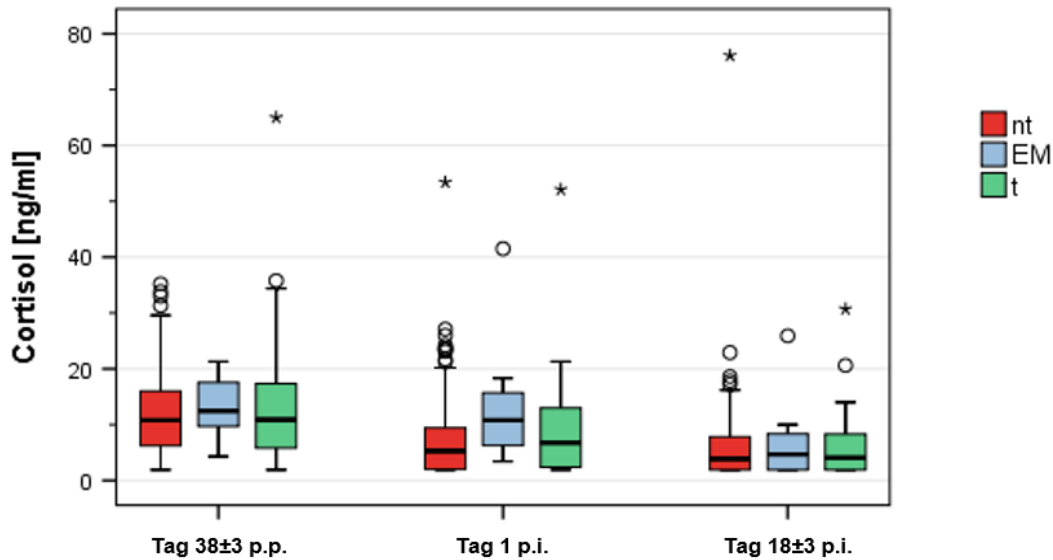
### 4.5.1 Unterschiede innerhalb der UG FWZ42

In der UG FWZ42 waren die Serumkonzentrationen von Cortisol in ng/ml in den Gruppen nt und EM an Tag 1 p.i. signifikant unterschiedlich (5,3 vs. 10,8;  $p = 0,023$ ; Tabelle 13 und Abbildung 19).

**Tabelle 13: Medianwerte der Serumkonzentrationen von Cortisol in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten und p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.
t (n = 80)	11,1	7,0	4,2
nt (n = 149)	10,8	5,3	3,8
EM (n = 8)	12,5	10,8	4,7
<b>Gruppenvergleiche:</b>			
nt vs. t	-	-	-
nt vs. EM	-	<b>p = 0,023</b>	-
t vs. EM	-	-	-

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



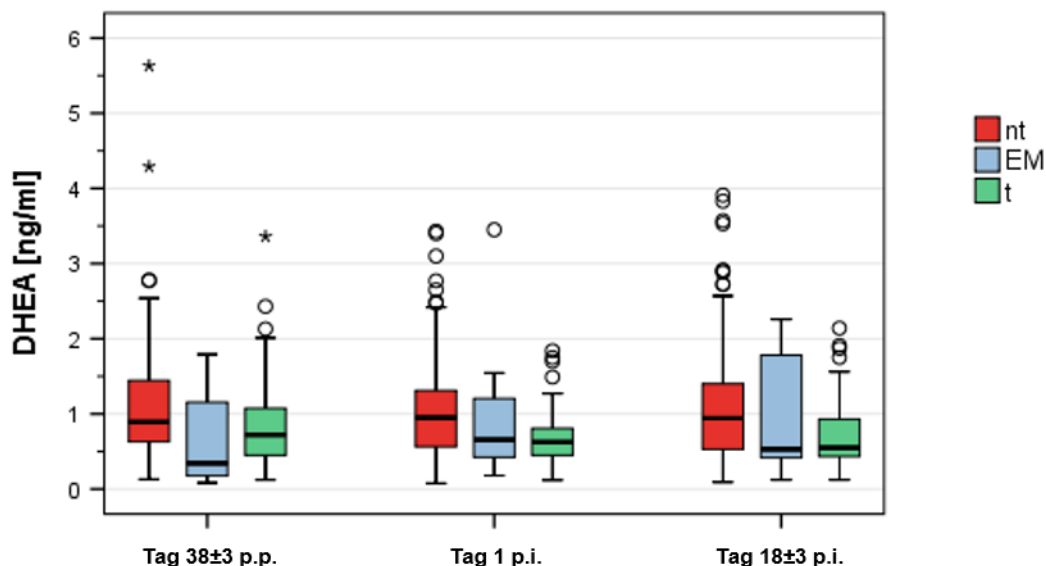
**Abbildung 19: Boxplots; Serumkonzentrationen von Cortisol in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 waren die Serumkonzentrationen von DHEA in ng/ml an Tag 38 ± 3 p.p. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (0,92 vs. 0,72; p = 0,001) und zur Gruppe EM (0,92 vs. 0,34; p = 0,032). An Tag 1 p.i. waren die Werte in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (0,95 vs. 0,63; p < 0,001). Dasselbe galt für Tag 18 ± 3 p.i. (0,98 vs. 0,55; p < 0,001; Tabelle 14 und Abbildung 20).

**Tabelle 14: Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.
t (n = 80)	0,72	0,63	0,55
nt (n = 149)	0,92	0,95	0,98
EM (n = 8)	0,34	0,66	0,53
<b>Gruppenvergleiche:</b>			
nt vs. t	p = 0,001	p < 0,001	p < 0,001
nt vs. EM	p = 0,032	-	-
t vs. EM	-	-	-

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei p ≥ 0,05.



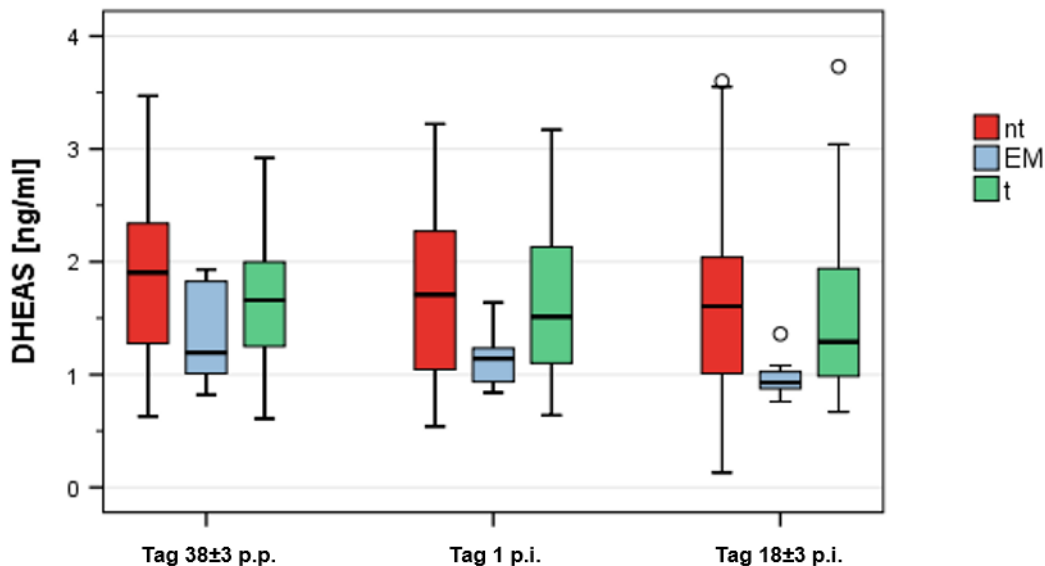
**Abbildung 20: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 waren die Serumkonzentrationen von DHEAS in ng/ml an Tag  $38 \pm 3$  p.p. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (1,91 vs. 1,65;  $p = 0,019$ ) und zur Gruppe EM (1,91 vs. 1,20;  $p = 0,022$ ). An Tag  $18 \pm 3$  p.i. waren die Werte in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe EM (1,59 vs. 0,93;  $p = 0,005$ ). Dasselbe galt für Tag  $18 \pm 3$  p.i. für die Gruppe t zur Gruppe EM (1,30 vs. 0,93;  $p = 0,008$ ; Tabelle 15 und Abbildung 21).

**Tabelle 15: Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEAS in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM)**

	Tag $38 \pm 3$ p.p.	Tag 1 p.i.	Tag $18 \pm 3$ p.i.
t (n = 80)	1,65	1,52	1,30
nt (n = 143)	1,91	1,72	1,59
EM (n = 8)	1,20	1,14	0,93
<b>Gruppenvergleiche:</b>			
nt vs. t	<b>p = 0,019</b>	-	-
nt vs. EM	<b>p = 0,022</b>	-	<b>p = 0,005</b>
t vs. EM	-	-	<b>p = 0,008</b>

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



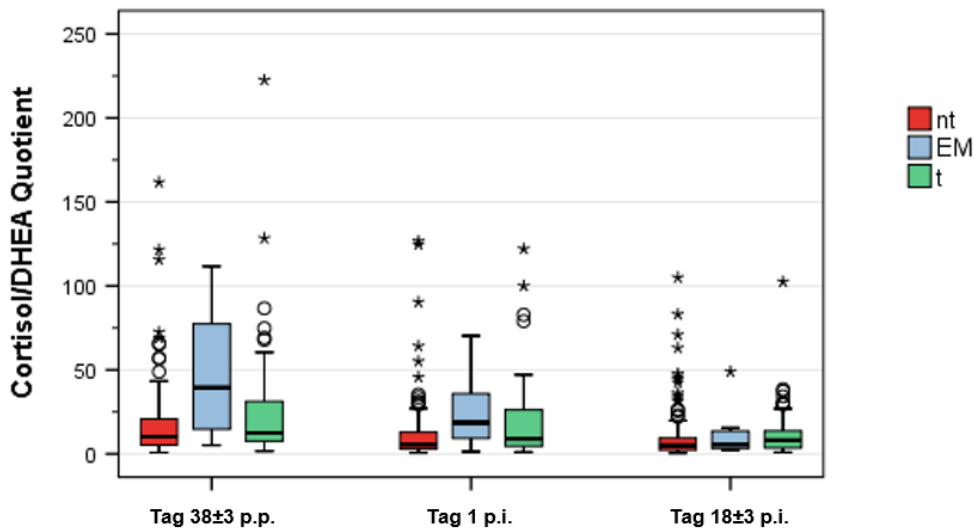
**Abbildung 21: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEAS in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten.**

In der UG FWZ42 waren die Cortisol/DHEA-Quotienten an Tag 38 ± 3 p.p. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (10,14 vs. 12,57;  $p = 0,032$ ) und zur Gruppe EM (10,14 vs. 39,47;  $p = 0,013$ ). An Tag 1 p.i. waren die Werte in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (5,52 vs. 9,62;  $p = 0,002$ ) und zur Gruppe EM (5,52 vs. 18,62;  $p = 0,029$ ). An Tag 18 ± 3 p.i. waren die Werte in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (4,97 vs. 8,26;  $p = 0,007$ ; Tabelle 16 und Abbildung 22).

**Tabelle 16: Medianwerte des Cortisol/DHEA-Quotienten in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.
t (n = 80)	12,57	9,62	8,26
nt (n = 149)	10,14	5,52	4,97
EM (n = 8)	39,47	18,62	5,57
<b>Gruppenvergleiche:</b>			
nt vs. t	$p = 0,032$	$p = 0,002$	$p = 0,007$
nt vs. EM	$p = 0,013$	$p = 0,029$	-
t vs. EM	-	-	-

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



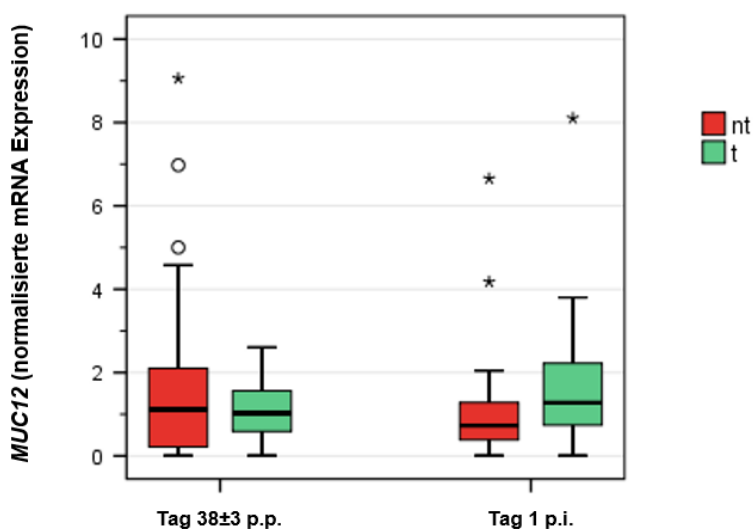
**Abbildung 22: Boxplots; Cortisol/DHEA-Quotient in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 war die normalisierte mRNA Expression von *MUC12* an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (0,72 vs. 1,40;  $p = 0,046$ ; Tabelle 17 und Abbildung 23).

**Tabelle 17: Medianwerte der normalisierten mRNA Expression von *MUC12* in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.
t (n = 20)	1,02	1,40
nt (n = 28)	1,11	0,72
<b>Gruppenvergleich:</b>		
nt vs. t	-	$p = 0,046$

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$



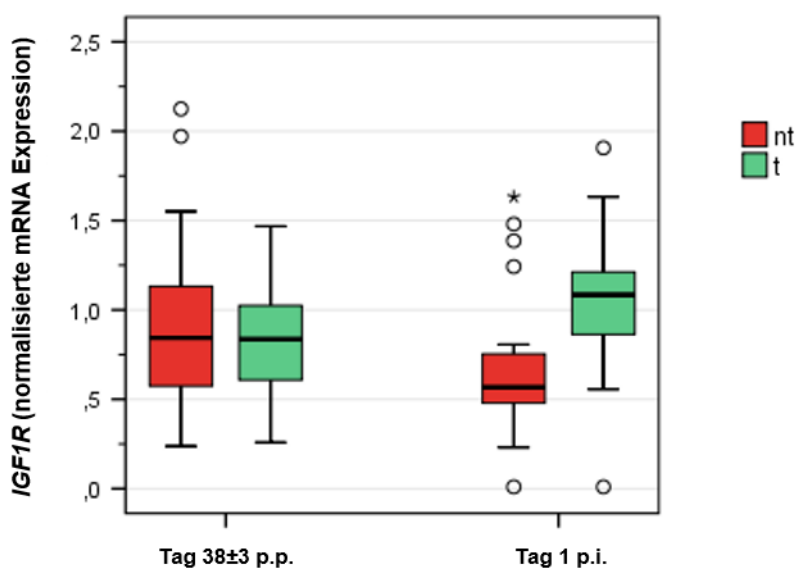
**Abbildung 23: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von *MUC12* in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 war die normalisierte mRNA-Expression von *IGF1R* an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (0,57 vs. 1,05;  $p = 0,002$ ; Tabelle 18 und Abbildung 24).

**Tabelle 18: Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von *IGF1R* in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.
t (n = 20)	0,84	1,05
nt (n = 28)	0,84	0,57
<b>Gruppenvergleich:</b>		
<b>nt vs. t</b>	-	<b>p = 0,002</b>

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



**Abbildung 24: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von *IGF1R* in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

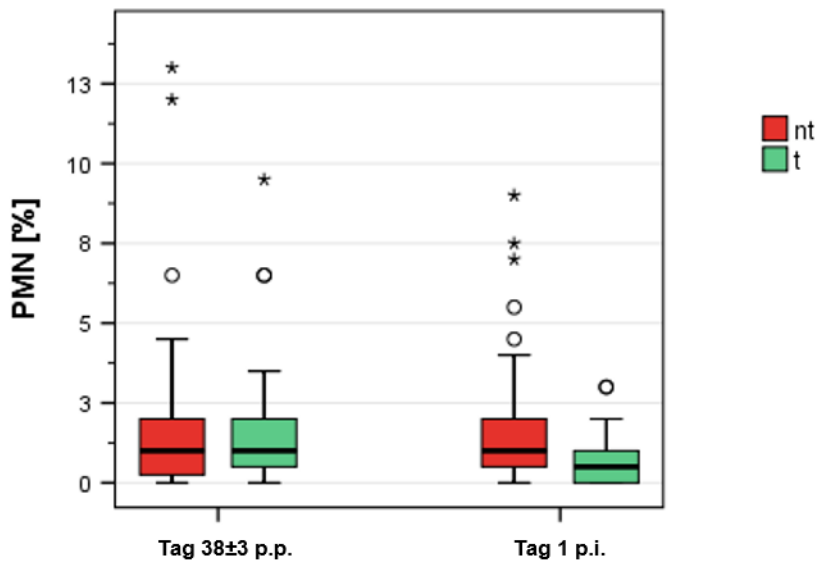
In der UG FWZ42 war der Anteil der endometrialen PMN in % an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (1,0 vs. 0,5;  $p = 0,014$ ; Tabelle 19 und Abbildung 25).

**Tabelle 19: Medianwerte des endometrialen Anteiles der PMN in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.
t (n = 39)	1,0	0,5
nt (n = 61)	1,0	1,0
<b>Gruppenvergleich:</b>		
<b>nt vs. t</b>	-	<b>p = 0,014</b>

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .





**Abbildung 25: Boxplots; Endometrialer Anteil der PMN in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 war die Serumkonzentration von Progesteron in ng/ml an Tag  $46 \pm 3$  p.i. in der Gruppe t signifikant unterschiedlich zur Gruppe EM ( $6,2 \pm 1,9$  vs  $2,6 \pm 3,1$ ;  $p < 0,001$ ; Tabelle 20).

**Tabelle 20: Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen der Serumkonzentrationen von Progesteron in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (t vs. EM)**

	Tag $32 \pm 3$ p.i. (TU1)	Tag $46 \pm 3$ p.i. (TU2)	Tag $60 \pm 3$ p.i. (TU3)
t (n = 79)	$6,3 \pm 1,7$	$6,2 \pm 1,9$	$6,9 \pm 2,2$
EM (n = 8)	$5,2 \pm 2,3$	$2,6 \pm 3,1$	-
<b>Gruppenvergleich:</b>			
<b>t vs. EM</b>	-	<b><math>p &lt; 0,001</math></b>	-

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .

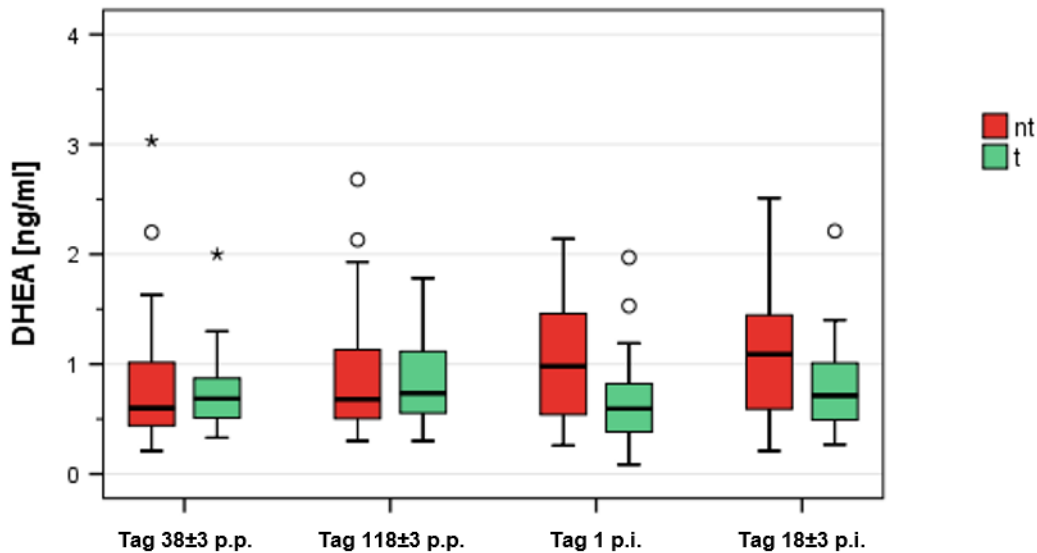
#### 4.5.2 Unterschiede innerhalb der UG FWZ120

In der UG FWZ120 waren die Serumkonzentrationen von DHEA in ng/ml an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t ( $1,98$  vs.  $0,60$ ;  $p = 0,015$ ). Dasselbe galt für Tag  $18 \pm 3$  p.i. ( $1,09$  vs.  $0,71$ ;  $p = 0,047$ ; Tabelle 21 und Abbildung 26).

**Tabelle 21: Medianwerte der Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 118 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.
t (n = 24)	0,69	0,74	0,60	0,71
nt (n = 35)	0,60	0,68	0,98	1,09
<b>Gruppenvergleich:</b>				
nt vs. t	-	-	p = 0,015	p = 0,047

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



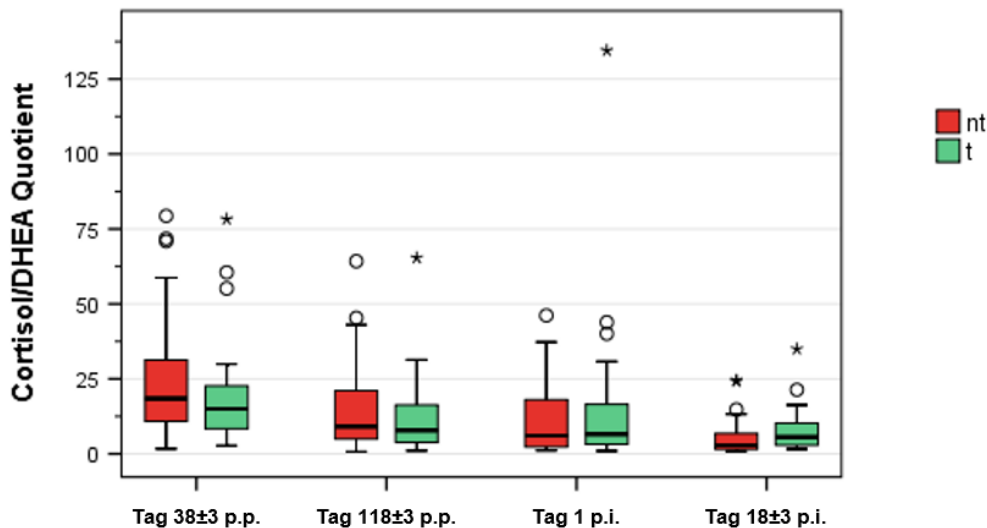
**Abbildung 26: Boxplots; Serumkonzentrationen von DHEA in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ120 waren die Cortisol/DHEA-Quotienten an Tag 18 ± 3 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (2,86 vs. 5,57;  $p = 0,024$ ; Tabelle 22 und Abbildung 27).

**Tabelle 22: Medianwerte des Cortisol/DHEA-Quotienten in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 118 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.
t (n = 24)	15,00	7,85	6,53	5,57
nt (n = 35)	18,46	9,09	6,06	2,86
<b>Gruppenvergleich:</b>				
nt vs. t	-	-	-	p = 0,024

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



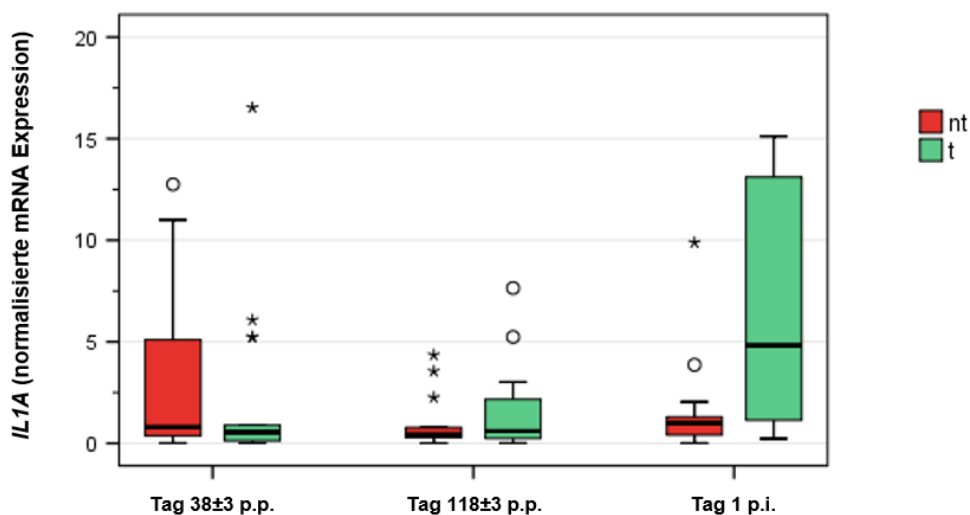
**Abbildung 27: Boxplots; Cortisol/DHEA-Quotient der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ120 war die normalisierte mRNA-Expression von *IL1A* an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (1,00 vs. 4,83;  $p = 0,007$ ; Tabelle 23 und Abbildung 28).

**Tabelle 23: Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von *IL1A* in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 118 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.
t (n = 18)	0,54	0,60	4,83
nt (n = 18)	0,80	0,44	1,00
<b>Gruppenvergleich:</b>			
nt vs. t	-	-	<b>p = 0,007</b>

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



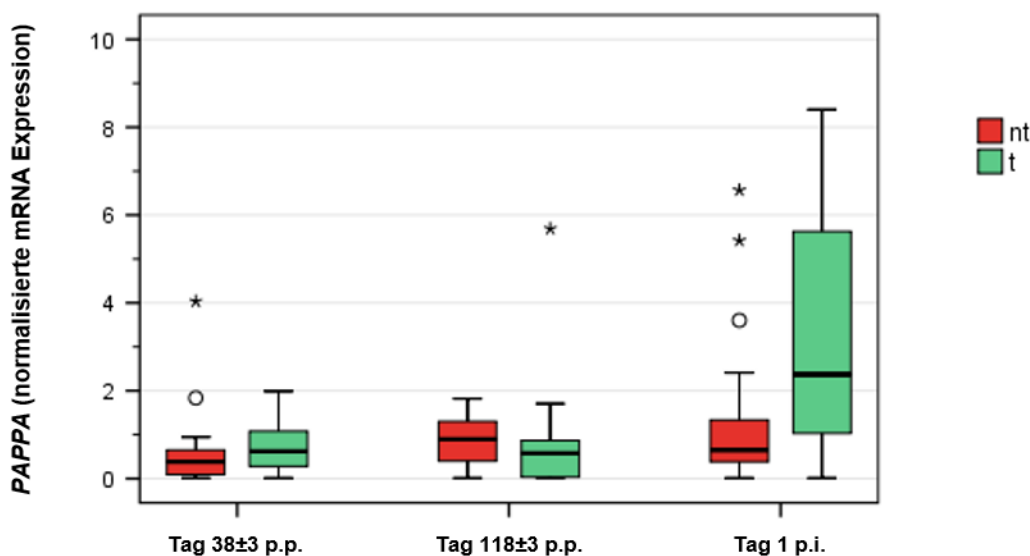
**Abbildung 28: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von *IL1A* in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ120 war die normalisierte mRNA Expression von *PAPPA* an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (0,65 vs. 2,37;  $p = 0,024$ ; Tabelle 24 und Abbildung 29).

**Tabelle 24: Medianwerte der normalisierten mRNA-Expression von *PAPPA* in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 118 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.
t (n = 18)	0,62	0,57	2,37
nt (n = 18)	0,38	0,90	0,65
<b>Gruppenvergleich:</b>			
nt vs. t	-	-	<b>p = 0,024</b>

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



**Abbildung 29: Boxplots; Normalisierte mRNA-Expression von *PAPPA* in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

## 4.6 IGF1 im Verlauf der Trächtigkeit

Verändert sich die Blutkonzentration von IGF-1 im Verlauf einer intakten Trächtigkeit (Tag 32 ± 3 p.i., Tag 46 ± 3 p.i. und Tag 60 ± 3 p.i.)? Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Höhe und ggf. Dynamik dieses Parameters zum Auftreten frühembryonaler Fruchtverluste?

Anmerkung: Zusätzlich wurden die Parameter IGFBP2-4 untersucht.

Für die Beantwortung dieser Fragestellung wurden IGF1, IGFBP2, IGFBP3 und IGFBP4, unterteilt nach UG FWZ42 und UG FWZ120, zu den jeweilig vorhandenen Untersuchungszeitpunkten nach Gruppen (t, nt und EM) aufgeteilt. Untersuchungen auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM) wurden an den jeweiligen Zeitpunkten durchgeführt. Darüber hinaus wurden Untersuchungen auf signifikante Unterschiede im Verlauf innerhalb einer Gruppe (t, nt und EM) durchgeführt.

In den nachfolgenden Tabellen werden die Medianwerte der Parameter aufgeführt, bei denen signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen an mindestens einem Zeitpunkt gemessen werden konnten.

In der UG FWZ42 waren die Plasmakonzentrationen von IGF1 in ng/ml an Tag 1 p.i. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (98,69 vs. 111,55;  $p = 0,018$ ) und in der Gruppe t tendenziell unterschiedlich zur Gruppe EM (111,55 vs. 86,09;  $p = 0,08$ ). An Tag 18  $\pm$  3 p.i. waren die Werte in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (107,74 vs. 119,62;  $p = 0,013$ ) (Tabelle 25 und Abbildung 30). Die bei der Untersuchung der Verläufe innerhalb der Gruppen über jeweils zwei nacheinander folgende Untersuchungszeitpunkte gemessenen signifikanten Unterschiede sind in Tabelle 26 dargestellt.

**Tabelle 25: Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM)**

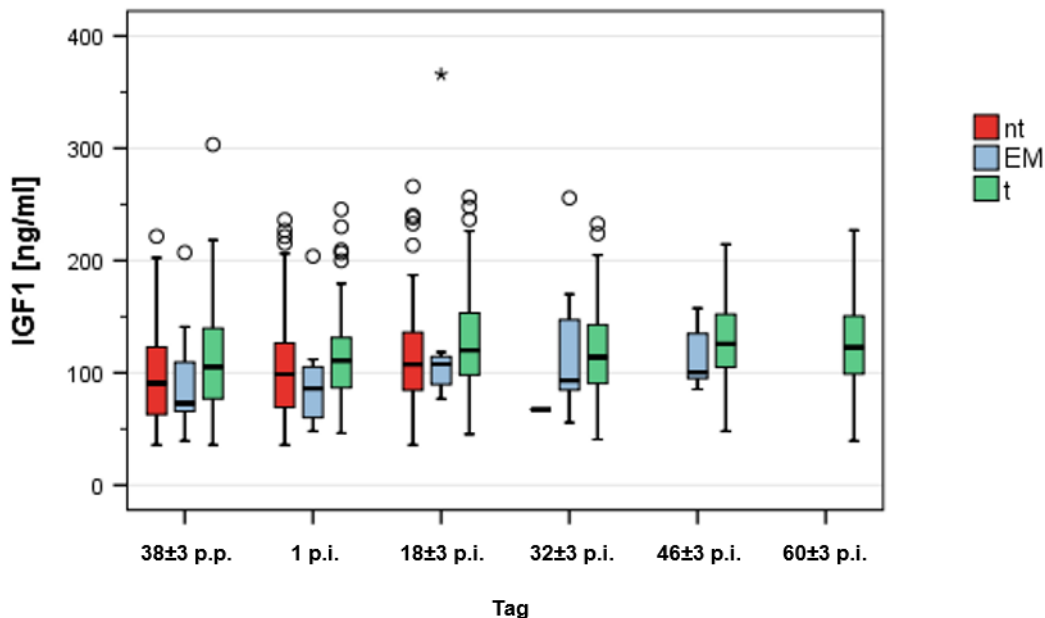
	Tag 38 $\pm$ 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 $\pm$ 3 p.i.	Tag 32 $\pm$ 3 p.i.	Tag 46 $\pm$ 3 p.i.	Tag 60 $\pm$ 3 p.i.
t (n = 80)	105,19	111,55	119,62	113,91	125,73	122,73
nt (n = 149)	91,35	98,69	107,74	-	-	-
EM (n = 8)	72,89	86,09	107,83	93,13	100,35	-
<b>Gruppenvergleiche:</b>						
nt vs. t	-	<b>p = 0,018</b>	<b>p = 0,013</b>	-	-	-
nt vs. EM	-	-	-	-	-	-
t vs. EM	-	<b>p = 0,08</b>	-	-	-	-

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,1$ .

**Tabelle 26: p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGF1 in der UG FWZ42 zwischen zwei nacheinander folgenden Zeitpunkten innerhalb einer Gruppe (t, nt und EM)**

	von Tag 38 $\pm$ 3 p.p. bis Tag 1 p.i.	von Tag 1 p.i. bis Tag 18 $\pm$ 3 p.i.	von Tag 18 $\pm$ 3 p.i. bis Tag 32 $\pm$ 3 p.i.	von Tag 32 $\pm$ 3 p.i. bis Tag 46 $\pm$ 3 p.i.	von Tag 46 $\pm$ 3 p.i. bis Tag 60 $\pm$ 3 p.i.
t	-	<b>p &lt; 0,001</b>	<b>p = 0,022</b>	-	-
nt	<b>p = 0,03</b>	<b>p &lt; 0,001</b>	-	-	-
EM	-	-	-	-	-

Wenn zwischen zwei Zeitpunkten keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,05$ .



**Abbildung 30: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ120 waren die Plasmakonzentrationen von IGF1 in ng/ml an Tag 118 ± 3 p.p. in der Gruppe nt signifikant unterschiedlich zur Gruppe t (144,94 vs. 110,21; p = 0,039) (Tabelle 27 und Abbildung 31). Die bei der Untersuchung der Verläufe innerhalb der Gruppen über jeweils zwei nacheinander folgende Untersuchungszeitpunkte gemessenen signifikanten Unterschiede sind in Tabelle 28 dargestellt.

**Tabelle 27: Medianwerte der Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten und die p-Werte der Gruppenvergleiche (nt vs. t)**

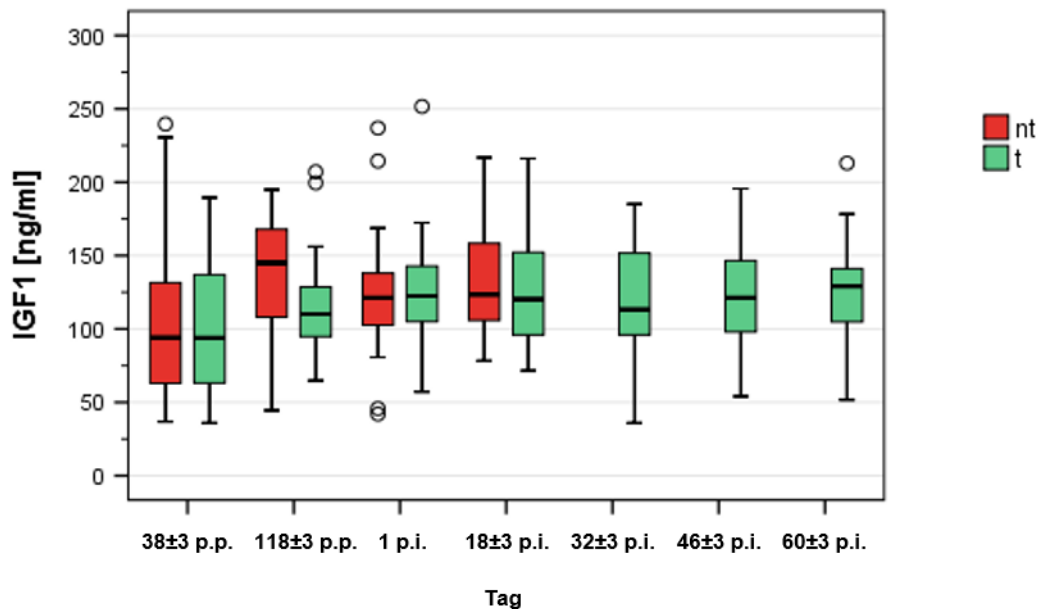
	Tag 38 ± 3 p.p.	Tag 118 ± 3 p.p.	Tag 1 p.i.	Tag 18 ± 3 p.i.	Tag 32 ± 3 p.i.	Tag 46 ± 3 p.i.	Tag 60 ± 3 p.i.
t (n = 24)	93,87	110,21	122,52	120,15	113,21	121,27	129,13
nt (n = 35)	94,09	144,94	121,23	123,44	-	-	-
<b>Gruppenvergleich:</b>							
nt vs. t	-	p = 0,039	-	-			

Wenn keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei p ≥ 0,05.

**Tabelle 28: p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGF1 in der UG FWZ120 zwischen zwei nacheinander folgenden Zeitpunkten innerhalb der Gruppen t und nt**

	von Tag 38 ± 3 p.p. bis Tag 118 ± 3 p.p.	von Tag 118 ± 3 p.p. bis Tag 1 p.i.	von Tag 1 p.i. bis Tag 18 ± 3 p.i.	von Tag 18 ± 3 p.i. bis Tag 32 ± 3 p.i.	von Tag 32 ± 3 p.i. bis Tag 46 ± 3 p.i.	von Tag 46 ± 3 p.i. bis Tag 60 ± 3 p.i.
t	-	-	-	-	-	-
nt	p = 0,002	-	-	-	-	-

Wenn zwischen zwei Zeitpunkten keine p-Werte eingetragen wurden, liegt das Signifikanzniveau bei p ≥ 0,05.



**Abbildung 31: Boxplots; Plasmakonzentrationen von IGF1 in der UG FWZ120 aufgeteilt nach Gruppen (t und nt) und Untersuchungszeitpunkten**

In der UG FWZ42 gab es für die Serumkonzentrationen von IGFBP4 in ng/ml keine signifikanten Unterschiede bei den Gruppenvergleichen (nt vs. t, nt vs. EM und t vs. EM) zu den untersuchten Zeitpunkten (Tabelle 29 und Abbildung 32). Die bei der Untersuchung der Verläufe innerhalb der Gruppen über jeweils zwei nacheinander folgende Untersuchungszeitpunkte gemessene Tendenz ist in Tabelle 30 dargestellt.

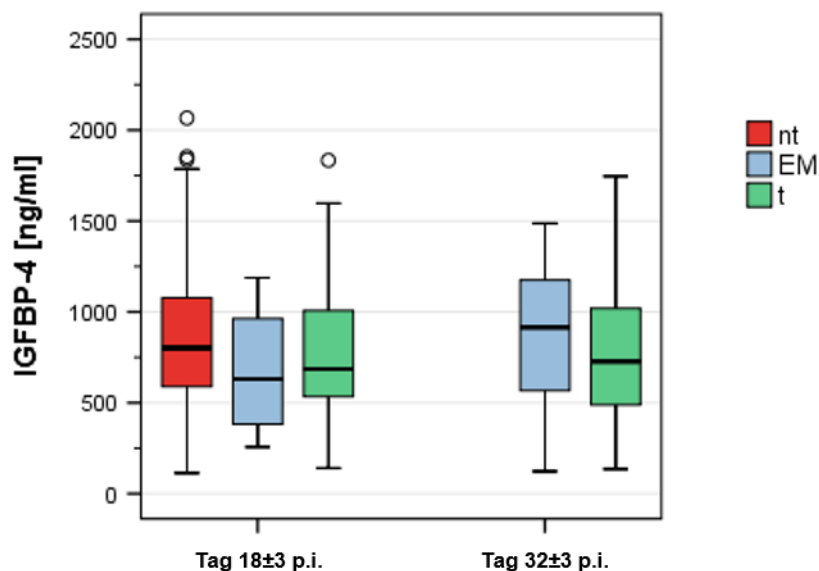
**Tabelle 29: Medianwerte der Serumkonzentrationen von IGFBP4 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

	Tag 18 ± 3 p.i.	Tag 32 ± 3 p.i.
t (n = 80)	685,11	726,96
nt (n = 149)	804,45	-
EM (n = 8)	629,84	914,32

**Tabelle 30: p-Werte der Verlaufsunterschiede von IGFBP4 in der UG FWZ42 zwischen zwei Zeitpunkten innerhalb der Gruppen t, nt und EM**

	von Tag 18 ± 3 p.i. bis Tag 32 ± 3 p.i.
t	-
EM	p = 0,069

Wenn kein p-Wert eingetragen wurde, liegt das Signifikanzniveau bei  $p \geq 0,1$ .



**Abbildung 32: Boxplots; Serumkonzentrationen von IGFBP4 in der UG FWZ42 aufgeteilt nach Gruppen (t, nt und EM) und Untersuchungszeitpunkten**

## 4.7 Fertilitätsprognosen

Ist anhand der untersuchten Parameter im Blut bzw. der Uterusschleimhaut zum Tag  $38 \pm 3$  p.p. eine Prognose zur Fertilität der Kühe möglich?

Für die Beantwortung dieser Fragestellung wurden in der UG FWZ42 die Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, die Serumkonzentrationen von DHEA, DHEAS und Cortisol, der Cortisol/DHEA-Quotient, die endometriale mRNA-Expression von *CXCL1/2*, *CXCL3*, *CXCL5*, *IL1A*, *IL1B*, *IL8*, *MUC4*, *MUC12*, *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA* und der endometriale PMN-Anteil, jeweils an Tag  $38 \pm 3$  p.p., zur Rastzeit und Günstzeit (in Tagen) korreliert.

Eine Korrelation konnte für die in der folgenden Tabelle 31 aufgeführten Parameter gezeigt werden. Die Abbildung 33 und Abbildung 34 zeigen die zugehörigen Streudiagramme.

**Tabelle 31: Signifikante Korrelationskoeffizienten der Rast- und Günstzeit der UG FWZ42 zu IGF1 und dem endometrialen Anteil der PMN an Tag  $38 \pm 3$  p.p.**

	Rastzeit [Tage]	Günstzeit [Tage]
IGF1 [ng/ml] an Tag $38 \pm 3$ p.p.	- 0,266**	- 0,264**
PMN [%] an Tag $38 \pm 3$ p.p.	0,280**	

Bei einer Kennzeichnung mit \*\* ist die Korrelation auf dem 0,01 Niveau signifikant.

Wenn keine signifikante Korrelation beobachtet werden konnte, wurde kein Wert eingetragen.

Eine Orientierung zur Bewertung der Korrelationskoeffizienten gibt Tabelle 1.



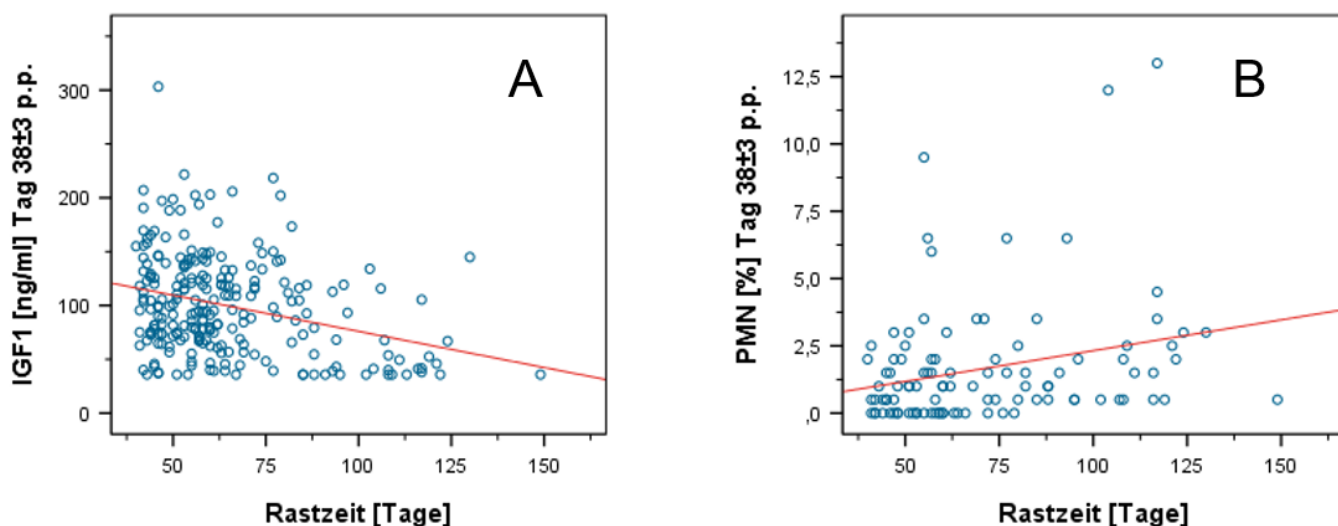


Abbildung 33: Streudiagramme; Korrelation der Rastzeit zu (A) der Blutplasmakonzentration von IGF1 und (B) dem endometrialen Anteil der PMN, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p.

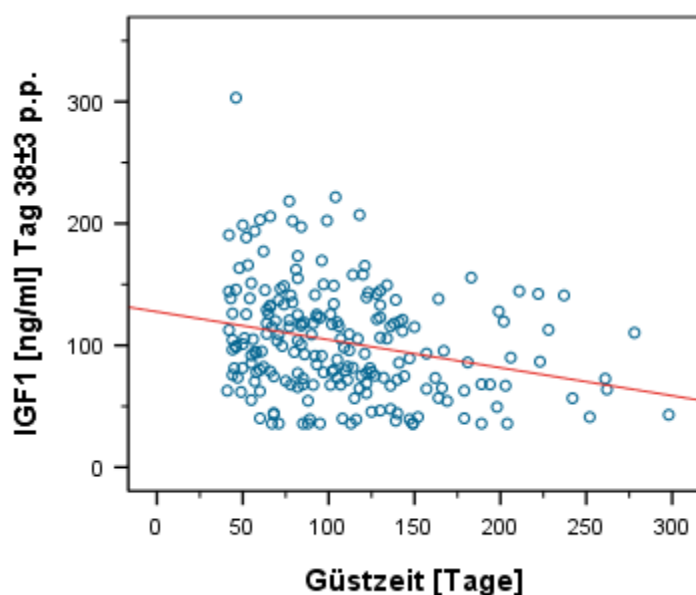


Abbildung 34: Streudiagramm; Korrelation der Gützeit zu IGF1 an Tag 38 ± 3 p.p.

Darüber hinaus wurden die Tiere der UG FWZ42 in zwei Untergruppen eingeteilt. Die erste Gruppe beinhaltet Kühe, bei denen innerhalb von 200 Tagen p.p. eine erneute Trächtigkeit nachweisbar war („fruchtbar“). Die zweite Gruppe beinhaltet Kühe, die aufgrund von Unfruchtbarkeit den Bestand verlassen mussten („unfruchtbar“). Diesen beiden Gruppen wurden die Plasmakonzentrationen von IGF1 und Haptoglobin, die Serumkonzentrationen von DHEA, DHEAS und Cortisol, der Cortisol/DHEA-Quotient, die endometriale mRNA-Expression von *CXCL1/2*, *CXCL3*, *CXCL5*, *IL1A*, *IL1B*, *IL8*, *MUC4*, *MUC12*, *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA* und der endometriale PMN-Anteil, jeweils an Tag 38 ± 3 p.p., zugeordnet, um signifikante Unterschiede feststellen zu können. Ein signifikanter Unterschied konnte bei der endometrialen mRNA-Expression von *IL1B* nachgewiesen werden (fruchtbar [n = 41]: 0,82 vs. unfruchtbar [n = 3]: 0,01; p = 0,028).

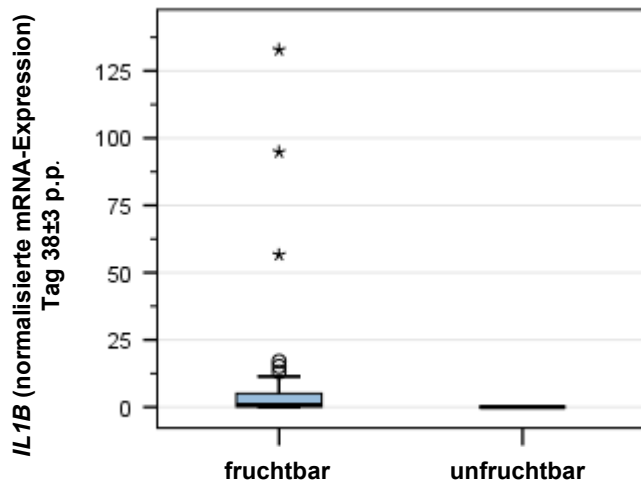


Abbildung 35: Boxplots; Verteilung der endometrialen mRNA-Expression von *IL1B* an Tag  $38 \pm 3$  p.p. in den Gruppen „fruchtbar“ und „unfruchtbar“

# 5 Diskussion

## 5.1 Zusammenhang der Fruchtbarkeit mit der FWZ

Für die beiden Gruppen mit den unterschiedlichen freiwilligen Wartezeiten von 42 und 120 Tagen konnten sowohl für die EBR60, als auch für den EBE und den Anteil von EM/FM zwischen Tag  $32 \pm 3$  p.i. und Tag  $60 \pm 3$  p.i. Unterschiede beobachtet werden.

Sowohl bei der EBR60, als auch bei dem EBE und dem Anteil der EM/FM zeigten die Tiere der UG FWZ120 verbesserte Fruchtbarkeitsergebnisse. Die EBR60 lag in der UG FWZ120 bei 100 %, in der UG FWZ42 dagegen bei 92,3 %. Außerdem wiesen Tiere aus der UG FWZ120 (EBE von 40,7 %) einen um 10,3 % besseren Erstbesamungserfolg auf, als die der UG FWZ42. In letztgenannter Gruppe lag der Erstbesamungserfolg bei 30,4 %. Darüber hinaus lag in der UG FWZ42 der Anteil der EM/FM bei 8,9 %, innerhalb der UG FWZ120 dagegen bei 0 %. Die Verteilung der Tierzahlen in den beiden UGs FWZ42 und FWZ120 bezüglich der EBR60, des EBE und dem Anteil der EM/FM zeigte allerdings nur im Falle der EBR60 eine Signifikanz ( $p = 0,019$ ).

Dennoch weisen diese Ergebnisse darauf hin, dass bei Tiere nach Beendigung einer verlängerten FWZ von 120 Tagen einerseits schneller besamungsfähige Brunsten erkannt werden und im Falle einer Erstbesamung diese häufiger zum Erfolg führen. Diese Beobachtung deckt sich auch mit den Ergebnissen einer aktuellen Studie, bei der sich durch die Verlängerung der FWZ von 40 auf 120 bzw. 180 Tage, sowohl die EBR46 (70,1 % vs. 88,9 % vs. 90,8 %), als auch der EBE (36,6 % vs. 48,9 % vs. 49,6 %) verbesserte (NIOZAS ET AL., 2019B). Darüber hinaus scheinen erfolgreich befruchtete Eizellen zu einem höheren Prozentsatz die Embryonalphase zu überleben, wobei diese Phase vom Committee on Bovine Reproductive Nomenclature (1972) als die kritischste Phase für die Etablierung einer Trächtigkeit angesehen wird, in der mit Verlusten von bis zu 25 % gerechnet werden muss.

DISKIN und MORRIS beschrieben 2008 EM/FM zwischen Tag 24 und 84 p.i. von 7,2 % bei laktierenden Tieren und 6,1 % bei Färsen, wobei ca. 50 % zwischen Tag 24 und 42 p.i. auftraten (DISKIN und MORRIS, 2008). In einer unveröffentlichten Studie des IFN Schönow e. V. konnte ein vergleichbares Ergebnis von 7,2 % EM/FM zwischen Tag 24 bis 57 p.i. bei einer FWZ von 42 Tagen ermittelt werden. Umso bemerkenswerter ist das Ergebnis von 0 % EM/FM zwischen Tag  $32 \pm 3$  p.i. und Tag  $60 \pm 3$  p.i. in der UG FWZ120. Um nachweisen zu können, dass eine FWZ von 120 Tagen im Vergleich zu 42 Tagen zu durchgehend signifikant besseren Fruchtbarkeitsergebnissen und weniger Fruchtverlusten führt, wäre allerdings eine höhere Versuchstierzahl, besonders in der UG FWZ120, notwendig.

Um die Beeinflussung der Fruchtbarkeit durch eine verlängerte FWZ auch auf biologischer Ebene untersuchen und untermauern zu können, wurden Parameter der somatotropen Achse, der HPA-Achse („Stressparameter“), des Stoffwechsels, der Entzündung und der Uterusgesundheit ausgewählt und ausgewertet. Die Ergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

## 5.2 Zusammenhang der somatotropen Achse mit der Fruchtbarkeit

In der vorliegenden Studie wurden Komponenten der somatotropen Achse im Blut (systemisch), sowie auch in Gebärmutterabstrichen (lokales IGF-System) untersucht.

### Ergebnisse der Blutparameter von tragenden und nicht tragenden Tieren

KOLLE ET AL. (1997) und VELAZQUEZ ET AL. (2008) konnten in Ihren Studien zeigen, dass IGF1 eine entscheidende Rolle für die Fruchtbarkeit sowohl direkt, als auch indirekt am Ovar, dem Eileiter und dem Uterus spielt (KOLLE ET AL., 1997; VELAZQUEZ ET AL., 2008). Außerdem wiesen BLOCK ET AL. (2007) und NEIRA ET AL. (2010) einen positiven Effekt von IGF1 auf die frühe embryonale Entwicklung *in vitro* nach (BLOCK ET AL. 2007; NEIRA ET AL., 2010). Resultierend aus diesen Erkenntnissen wurde der vorliegenden Untersuchung die Hypothese zugrunde gelegt, dass eine hohe IGF1-Konzentration im Blut eine Trächtigkeit begünstigt, während sich niedrigere IGF1-Konzentrationen nachteilig auf die Konzeption und das embryonale Wachstum auswirken.

Die unter 4.6 dargestellten Ergebnisse dieser Studie untermauern die aufgestellte Hypothese. In der UG FWZ42 konnte gezeigt werden, dass die IGF1-Konzentration im Plasma der tragenden Tiere an Tag 1 p.i. signifikant höher war als bei den nicht-tragenden Tieren (111,55 ng/ml vs. 98,69 ng/ml;  $p = 0,018$ ). Derselbe Effekt konnte in dieser Wartezeitgruppe auch am Tag  $18 \pm 3$  p.i. nachgewiesen werden. Hier zeigten die tragenden Tiere ebenfalls signifikant höhere IGF1-Konzentrationen im Plasma als die nicht tragenden Tiere (119,62 ng/ml vs. 107,74 ng/ml;  $p = 0,013$ ).

Der in dieser Studie an einer hohen Tieranzahl ( $n = 237$ ) nachzuweisende signifikante Unterschied in der IGF1 Plasmakonzentration von tragenden und nicht-tragenden Tieren bestätigt deutlich den positiven Einfluss von IGF1 auf die Fertilität. Dieser Effekt konnte in vorausgehenden Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe an geringeren Tierzahlen ( $n = 77$  und  $n = 55$ ) nicht eindeutig nachgewiesen werden (MENSE ET AL., 2018). Es kann spekuliert werden, dass die Tieranzahl der entscheidende Faktor für die Nachweisbarkeit dieses Effektes ist. Dies verdeutlicht den Mehrwert der vorliegenden umfangreichen Feldstudie.

Den positiven Effekt von IGF1 auf die Fruchtbarkeit belegt auch die unter Kapitel 4.7 dargestellte negative Korrelation zwischen IGF1-Blutleveln an Tag  $38 \pm 3$  p.p. und der Rastzeit (Korrelationskoeffizient (KK):  $-0,266^{**}$ ) und Gützeit (KK:  $-0,264^{**}$ ). Die negative Korrelation verdeutlicht, dass je höher die IGF1-Konzentration im Plasma der Versuchstiere ist (schon vor der Besamung), umso kürzer sind auch ihre Rastzeit und Gützeit. Das bedeutet, dass Tiere mit höheren IGF1-Werten früher zur Besamung vorgestellt und eher durch KB tragend wurden. IGF1 könnte also basierend auf diesen Ergebnissen ein geeigneter Parameter für die Prognose über die Fertilität einer Milchkuh sein.

Auch in anderen Studien wurde bereits ein negativer Effekt einer geringen IGF1-Konzentration im Blut auf die Fertilität beschrieben. So konnten KAWASHIMA ET AL. (2007) zeigen, dass geringere IGF1-Konzentrationen im Verlauf von 21 Tagen nach der Kalbung mit einer geringeren ersten Ovulationsrate bei Kühen in Verbindung stehen (KAWASHIMA ET AL., 2007). Es ist zu diskutieren, welche Ursachen ein verminderter IGF1-Wert im Blut von Rindern haben kann und wie dadurch der Erfolg einer Besamung beeinträchtigt wird.

MENSE ET AL. (2015) konnten in ihrer Studie einen Einfluss der Sexualsteroidhormone Östrogen und Progesteron auf die IGF1-Blutkonzentration im Zyklus von Färsen nachweisen (MENSE ET AL., 2015). Folglich könnte der IGF1-Wert im Blut der Versuchstiere vor allem an Tag  $38 \pm 3$  p.p. auch dadurch beeinflusst sein, ob die Tiere bereits einen physiologischen Zyklus aufweisen oder dieser verzögert beginnt. In Bezug auf die Interaktion zwischen der HPG-

Achse und der somatotropen Achse ist es zum jetzigen Zeitpunkt aufgrund der Studienlage noch nicht möglich abzuschätzen, welche Achse den maßgeblichen Einfluss auf die jeweils andere hat. Es wird jedoch zunehmend deutlich, dass sie in Interaktion stehen.

RHOADS ET AL. (2004) konnten nachweisen, dass eine verminderte IGF1-Konzentrationen im Blut von Milchkühen in Verbindung mit einer reduzierten Synthese von IGF1 in der Leber steht (RHOADS ET AL., 2004). Ursächlich wurde in dieser Studie eine GH-Resistenz der Leber beschrieben. Die peripartale Entkopplung der somatotropen Achse, also eine verminderte Expression des GHR aufgrund von unempfindlichen Hepatozyten gegenüber GH, wird vor allem drei Wochen vor und nach der Kalbung beschrieben (RADCLIFF ET AL., 2003). Der Zeitraum der eigenen Untersuchung liegt somit nicht innerhalb der von RADCLIFF ET AL. (2003) beschriebenen drei Wochen, allerdings gibt es weitere Studien, die einen Effekt der Entkopplung der somatotropen Achse nach der Kalbung auch über einen längeren Zeitraum hinweg dokumentieren. WATHES ET AL. (2007, 2011) und LUCY ET AL. (2009) beschreiben eine unterschiedlich starke Entkopplung der somatotropen Achse nach der Abkalbung, sodass bei einigen Tieren länger erniedrigte IGF1-Konzentrationen nachweisbar sind (WATHES ET AL., 2007; LUCY ET AL., 2009; WATHES ET AL., 2011). Ein Grund für die erniedrigten IGF1-Konzentrationen der nicht tragenden Tiere könnte also auch die Entkopplung der somatotropen Achse sein, dessen Auswirkungen in den Untersuchungszeitraum hineinreichen. Durch eine zu starke Entkopplung der somatotropen Achse und dadurch erhöhte GH-Konzentrationen im Blut trotz geringer IGF1-Ausschüttung wird eine negative Energiebilanz begünstigt (BUTLER ET AL., 2003). Es ist also auch denkbar, dass die nicht tragenden Tiere unter einer höheren NEB, also einer verstärkten metabolischen Belastung standen. Laut TAYLOR ET AL. (2004) kann dieser Zustand bei hochleistenden Milchkühen bis zu 20 Wochen nach der Kalbung andauern (TAYLOR ET AL., 2004).

Auch die unter Kapitel 4.2 beschriebenen Ergebnisse könnten mit den Auswirkungen der Entkopplung der somatotropen Achse und NEB im Zusammenhang stehen. In der durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass Tiere der UG FWZ42 an Tag 1 p.i. eine wesentlich niedrigere IGF1 Plasmakonzentration aufwiesen als die Tiere der UG FWZ120 (103,41 ng/ml vs. 121,39 ng/ml;  $p = 0,004$ ). Die Tiere, die zeitnaher zur Kalbung besamt wurden, könnten teilweise noch durch eine (ggf. überschießende) Entkopplung der somatotropen Achse beeinträchtigt worden sein und daher auch einen schlechteren EBE, wie in Kapitel 4.1 beschrieben, gehabt haben. Auch der höhere Prozentsatz an Tieren der UG FWZ42, die im Vergleich zur UG FWZ120 an Tag 1 p.i. eine IGF1-Blutkonzentration aufwiesen, welche auf eine hohe Beeinträchtigung der somatotropen Achse hindeutet, könnte im Zusammenhang mit diesem Effekt stehen (Kapitel 4.2).

Als eine weitere mögliche Ursache für erniedrigte IGF1 Werte gilt die Fütterung. GROSS ET AL. (2011) zeigen in ihrem Versuch an Kühen 100 Tage p.p. ein induziertes Absinken der IGF1-Konzentration durch verminderte Fütterung (GROSS ET AL., 2011). IGF1 ist also auch ein Spiegel für die Versorgungslage der Kuh mit Energie und Nährstoffen. In der hier vorgelegten Studie konnte passend dazu auch nachgewiesen werden, dass Tiere mit einer niedrigen Rückenfettdicke einen niedrigeren IGF1-Wert aufwiesen (KK: 0,259\*\*). Ferner konnte eine negative Korrelation von IGF1 mit der Milchmenge nachgewiesen werden. Umso niedriger die Milchleistung der Tiere war, umso höhere IGF1-Werte wiesen sie auf. Dies könnte einerseits durch die bessere Energieversorgung in der späteren Laktation bedingt sein, andererseits aber auch dadurch, dass in der späten Laktation kein Einfluss durch die Entkopplung der somatotropen Achse besteht, welche bis zu einem gewissen Grad zu physiologisch zu erniedrigten IGF1-Werten führt. Ist die Entkopplung überschießend, kann sie jedoch zu pathologischen Zuständen führen (RADCLIFF ET AL., 2003; PIECHOTTA ET AL., 2012).

PIECHOTTA ET AL. (2012) zeigten, dass erniedrigten IGF1-Konzentrationen im Blut während der späten Trächtigkeit, mit dem Auftreten von Produktionserkrankungen, im Zeitraum drei Wochen nach der Kalbung, im Zusammenhang standen (PIECHOTTA ET AL., 2012). Außerdem konnten postpartale Ketosen mit einer antepartalen Messung von erniedrigten IGF1-Konzentrationen im Blut assoziiert werden (PIECHOTTA ET AL., 2015).

### Ergebnisse der Blutproben bei Tieren mit embryonaler Mortalität

In der vorliegenden Studie wurde in der UG FWZ42 bei den Tieren mit embryonaler Mortalität ( $n = 8$ ) ein in Tendenz signifikanter Anstieg der IGFBP4-Konzentration im Blut zwischen Tag  $18 \pm 3$  p.i. und Tag  $32 \pm 3$  p.i. nachgewiesen ( $p = 0,068$ ). Die IGF1-Konzentration dieser Tiere war außerdem in Tendenz niedriger als bei Tieren mit intakter Trächtigkeit ( $86,09$  ng/ml vs.  $98,69$  ng/ml;  $p = 0,08$ ). Allerdings konnten keine signifikanten Unterschiede der IGFBP4-Konzentration zwischen Tieren der Gruppen t und nt festgestellt werden. Durch die sehr geringe Zahl an Tieren mit embryonaler Mortalität ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse als gering zu betrachten. Es kann nicht eingeschätzt werden, ob ein Zusammenhang zwischen einem Fruchtverlust und erhöhter IGFBP4 Konzentration im Blut besteht. Da IGFBP4 in der Literatur als ein inhibierendes Bindungsprotein von IGF1 beschrieben wird (RAJARAM ET AL., 1997; NING ET AL., 2008), ist eine gleichzeitige Abnahme der messbaren IGF1 Konzentration im Blut parallel zum Anstieg der IGFBP4-Konzentration als stimmig zu bewerten. Für eine Beurteilbarkeit von IGFBP4 als Marker für EM/FM wären weiterführende Studien mit erhöhten Tierzahlen notwendig.

### Ergebnisse der Gebärmutterabstriche der tragenden und nicht tragenden Tiere

ASHWORTH ET AL. (2005) UND ROBINSON ET AL. (2000) messen dem lokalen endometrialen IGF1-System im Rahmen der embryomaternalen Kommunikation, den Prozessen der Dezidualisierung sowie dem fetalen Wachstum eine große Bedeutung zu (ROBINSON ET AL., 2000; ASHWORTH ET AL., 2005). In der hier vorliegenden Studie wurden daher in den an Tag  $38 \pm 3$  p.p. und 1 p.i. entnommenen Gebärmutterabstrichen die mRNA-Expression von *IGF1*, *IGF1R* und *PAPPA* analysiert.

Es konnte gezeigt werden, dass in der UG FWZ42 die mRNA-Expression von *IGF1R* im Endometrium der tragenden Tiere an Tag 1 p.i. signifikant höher war als bei den Tieren, deren Besamung nicht zum Erfolg führte ( $1,05$  vs.  $0,57$ ,  $p = 0,002$ ). LEROITH ET AL. (1995) und ULLRICH ET AL. (1986) beschreiben, dass der IGF1 Rezeptor die Wirkung von IGF vermittelt und hierbei besonders das Wachstum fördert (ULLRICH ET AL., 1986; LEROITH ET AL., 1995). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass eine hohe Dichte dieses Rezeptors dazu führt, dass IGF1 seine Wirkung durch Bindung an den Rezeptor entfalten kann. Dies könnte zum Beispiel die optimale Vorbereitung der Schleimhaut auf die Einnistung des Embryos und auf seine spätere Versorgung sein.

Nicht-tragende Tiere wiesen eine geringere mRNA-Expression des *IGF1R* auf. Möglicherweise kann die ausreichende Expression des *IGF1R* nur in einem nach der Abkalbung komplett regenerierten Endometrium stattfinden. Tiere, welche nach der KB nicht tragend wurden, wiesen in der UG FWZ42 neben der verminderten *IGF1R*-Expression auch einen höheren Prozentsatz an PMN auf als tragende Tiere. Vielleicht besteht hier ein Zusammenhang, der in nachfolgenden Studien an einer erhöhten Tierzahl untersucht werden sollte. Diese Hypothese könnte auch erklären, warum bei der UG FWZ 120 kein Unterschied in der mRNA-Expression des *IGF1R* mehr messbar war. Eventuell war hier das Endometrium von allen Tieren schon regeneriert, sodass dieser Unterschied in der Gruppe mit der längeren Wartezeit keinen Einfluss mehr auf das Trächtigkeitsergebnis hatte.

Ein weiteres sehr interessantes Ergebnis in der UG FWZ120 war die signifikant höhere mRNA-Expression von *PAPPA* in der Gruppe der Tiere, welche nach KB tragend wurden im Vergleich zu den Tieren mit nicht erfolgreicher Besamung an Tag 1 p.i. ( $2,37$  vs.  $0,65$ ,  $p = 0,024$ ). Beim Menschen ist bekannt, dass die Metalloproteinase *PAPPA* die proteolytische Spaltung von IGFBP4 ermöglicht und somit das gebundene IGF1 freisetzt. Erst danach kann das freie IGF1 an seinen Rezeptor binden und seine Wirkung entfalten (LAWRENCE ET AL., 1999). Falls die *PAPPA* beim

Rind dieselbe Funktion haben sollte, kann die vermehrte mRNA-Expression dieser Metalloproteinase ebenfalls als Vorbereitung des Endometriums auf die Einnistung eines Embryos interpretiert werden. Um die Rolle der PAPP-A für die Fruchtbarkeit des Rindes besser zu verstehen, sind weiterführende Studien notwendig.

## 5.3 Zusammenhang von mit Stress assoziierten Parametern und der Fruchtbarkeit

In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass Tiere, bei denen die Erstbesamung nicht erfolgreich war, eine signifikant höhere DHEA-Konzentration im Blut aufwiesen als Tiere, die durch die Besamung tragend wurden. Dieser Effekt war in UG FZW42 zu allen Untersuchungszeitpunkten (Tag  $38 \pm 3$  p.p., Tag 1 p.i., Tag  $18 \pm 3$  p.i.) signifikant und in UG FWZ120 für Tag 1 p.i. und Tag  $18 \pm 3$  p.i. Im Gegensatz dazu konnten für Cortisol keine signifikanten Unterschiede zwischen den tragenden und nicht-tragenden Tieren nachgewiesen werden. Der Cortisol/DHEA-Quotient hingegen war bei den nicht tragenden Tieren der UG FZW42 zu allen Untersuchungszeitpunkten (Tag  $38 \pm 3$  p.p., Tag 1 p.i., Tag  $18 \pm 3$  p.i.) signifikant niedriger als bei den tragenden Tieren. Dieser Effekt ließ sich auch in der kleinen UG FWZ120 an Tag  $18 \pm 3$  p.i. nachweisen.

Ursache für diese Unterschiede zwischen den Gruppen (nt vs. t) in der Konzentration von DHEA, nicht aber von Cortisol, könnte sein, dass DHEA nach der Einwirkung eines Stress-Stimulus länger im Blut nachweisbar ist als Cortisol. CUTLER ET AL. (1979) konnten beim Mensch nachweisen, dass die Cortisol-Konzentration im Blut nach ACTH Langzeitgabe sehr schnell wieder auf das Basallevel abfiel (CUTLER ET AL., 1979). Die DHEA- und DHEAS-Werte jedoch über längere Zeit nachweisbar erhöht blieben. Es wäre also denkbar, dass der Einfluss von zuvor stressverursachenden Situationen bei den Tieren nur noch anhand des DHEA Wertes nachweisbar war, aber nicht mehr deutlich in der Cortisol Konzentration.

Ein anderer möglicher Grund ist, dass durch die Fixation vor der Blutprobenentnahme und die Blutentnahme selbst bei einigen Tieren schon eine Erhöhung der Cortisol-Konzentration ausgelöst wurde. Dies könnte dazu geführt haben, dass ein möglicher Unterschied zwischen der Stressbelastung der tragend werdenden Tiere und der nicht tragend werdenden Tiere nicht mehr nachgewiesen werden konnte. MORMEDE ET AL. (2007) und SHERIFF ET AL. (2011) konnten zeigen, dass das Handling von Tieren und die Blutentnahme selbst bereits zu einer minutenschnellen Erhöhung der Cortisol-Werte führen kann (MORMEDE ET AL., 2007; SHERIFF ET AL., 2011).

Die signifikant höheren DHEA-Werte bei den Tieren, welche nicht tragend wurden, im Vergleich zu den tragenden Tieren, deuten allerdings darauf hin, dass ein negativer Einfluss von Stress auf die Etablierung einer Trächtigkeit nach Besamung besteht. FUSTINI ET AL. (2017) zeigten, dass Tiere, die Stressoren über mehrere Tage hinweg ausgesetzt waren, im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Stresseinwirkung eine Erhöhung der DHEA Konzentration im Blut aufwiesen (FUSTINI ET AL., 2017). Wenn man basierend darauf von einer höheren Stressbelastung der Gruppe nt ausgeht, erlaubt dies die Hypothese, dass stressbelastete Tiere schlechter aufnehmen. SUMMERS ET AL. (2014) assoziieren Nicht-Trächtigkeit mit erhöhten DHEA Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit bei Fleischrindern und spekulieren über eine negative Beeinflussung der Follikelanbildung (SUMMERS ET AL., 2014). Natürlich muss hier die Messung in verschiedenen Flüssigkeiten des Körpers beachtet werden, aber diese Studie stellt ebenfalls einen Zusammenhang zwischen einer erhöhten DHEA-Konzentration und einem negativen Einfluss auf die Fertilität her. LI ET AL. (2011) konnten eine negative Korrelation der DHEA-Konzentration in der Follikelflüssigkeit unfruchtbarer Frauen während einer *In vitro*-Fertilisation zur Oozytenreife, Befruchtungserfolg und zu der Anzahl von lebensfähigen Embryonen feststellen (LI ET AL., 2011). Weitere Studien über die genaue Wirkungsweise von DHEA im bovinen Organismus und dessen genauen Einfluss auf das Reproduktionsgeschehen sind anzustreben.

Der Cortisol/DHEA-Quotient war bei den nicht-tragenden Tieren im Vergleich zu den tragenden Tieren an allen Untersuchungszeitpunkten (Tag  $38 \pm 3$  p.p., Tag 1 p.i., Tag  $18 \pm 3$  p.i.) signifikant niedriger. Dieser Parameter steht also wahrscheinlich im deutlichen Zusammenhang mit der Fähigkeit eine Trächtigkeit zu etablieren und könnte daher eine gute Aussagekraft für die Untersuchung von Stresseinflüssen auf die Trächtigkeit haben. Laut ALMEIDA ET AL. (2008) hat der Cortisol/DHEA-Quotient möglicherweise eine höhere Aussagekraft für die Evaluation einer Stressantwort als die alleinige Bestimmung der Cortisol Konzentration (ALMEIDA ET AL., 2008). Daher findet der Cortisol/DHEA -Quotient, beispielsweise als zusätzliches diagnostisches Hilfsmittel bei klinischen Psychologiestudien in der Humanmedizin vielseitigen Einsatz (RITSNER ET AL., 2004; GALLAGHER ET AL., 2007). Bei älteren Menschen (BUTCHER ET AL., 2005) und auch bei Kühen (ALMEIDA ET AL., 2008) wurde der Quotient bisher jedoch auch als Entzündungsmarker betrachtet.

Auch bei Tieren der UG FWZ42, welche EM zeigten, war der Cortisol/DHEA-Quotient im Vergleich zu den nicht-trächtigen Tieren an Tag  $38 \pm 3$  p.p. und Tag 1 p.i. signifikant erhöht. Ferner war bei diesen Tieren an Tag  $38 \pm 3$  p.p. ein signifikant geringerer DHEAS Wert bei den Tieren mit EM nachzuweisen als bei den nicht-tragenden Tieren. An Tag  $18 \pm 3$  p.i. war die DHEAS-Konzentration der EM-Tiere zudem signifikant niedriger als die der tragenden Tiere. Diese Ergebnisse geben Hinweise darauf, das DHEAS in Zusammenhang mit embryonaler Mortalität stehen könnte. Da trotz einer sehr kleinen Gruppengröße an Tieren mit EM ( $n = 8$ ) signifikante Unterschiede nachweisbar sind, scheint ein Zusammenhang von DHEAS zum Absterben der Frucht wahrscheinlich. Auch nach ausführlicher Literaturrecherche konnten keine weiteren Studien zur Bedeutung von DHEAS beim Rind gefunden werden. Aus der humanmedizinischen Forschung ist bekannt, dass DHEAS durch die Sulfatierung deutlich stabilere biologische Eigenschaften aufweist als DHEA. Die DHEAS Konzentration ist beim Menschen über den Tag hinweg konstant (LEOWATTANA, 2004) und kann somit durch eine einmalige Blutentnahme aussagekräftiger beurteilt werden. Des Weiteren stammt hier über 90 % des peripheren nachweisbaren DHEAS aus der Synthese in der NNR (LI ET AL., 2011). In der Literatur wird angegeben, dass DHEAS beim Mensch über die gleiche Wirkung wie DHEA verfügt (ODELL und PARKER, 1984).

Um die Rolle des DHEAS im bovinen Organismus umfassend nachvollziehen zu können, sollten weitergehende Forschungen für ein besseres Verständnis der physiologischen Abläufe dieses Steroidhormons folgen. Die Untersuchung einer höheren Anzahl von Tieren mit EM im Vergleich zu tragenden und nicht-tragenden Tieren sollte angestrebt werden, um die Rolle von DHEAS im Zusammenhang mit dem Auftreten von Fruchtverlusten besser interpretieren zu können. Von Bedeutung bei der Betrachtung der DHEAS-Konzentration scheint auch die Sulfatase zu sein, da diese erst die aktive Form, das DHEA für den Körper bereitgestellt (RAINEY ET AL., 2002).

Ein weiteres sehr interessantes Ergebnis dieser Studie ist, dass in der Tiergruppe mit längerer FWZ (UG FWZ120) im Vergleich zu der Tiergruppe mit kürzerer FWZ (UG FWZ42) an Tag 1 p.i. die DHEAS Konzentration signifikant höher ist und ein geringerer Prozentsatz der Tiere an Tag 1 p.i. auffällig hohe Cortisolwerte aufweist ( $>75\%$ -Quantil). Wie bereits in 6.1 beschrieben, konnten in der UG FWZ120 eine höhere EBR60 und ein 10,3 % höherer EBE als in UG FWZ42 beobachtet werden und es wurden in dieser Gruppe keine embryonalen Mortalitäten nachgewiesen. Es ist davon auszugehen, dass die geringere Stressbelastung um Tag 120 der Laktation im Vergleich zum Tag 42 der Laktation einen positiven Effekt auf die Fruchtbarkeit hat. Auch in der Studie von NIOZAS ET AL. (2019B) konnten positive Effekte auf die Fruchtbarkeit durch die Verlängerung der FWZ nachgewiesen werden (NIOZAS ET AL., 2019B).

Ferner konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass eine negative Korrelation zwischen der Cortisolkonzentration im Serum sowie dem Cortisol/DHEA-Quotienten und der 100-Tage-Milchleistung vorliegt. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass Tiere, die einer geringeren Aktivierung der HPA-Achse ausgesetzt sind („Stress“), mehr



Milch geben. Dieser positive Effekt kann das Interesse des Landwirtes an einer hohen Tiergesundheit und einem stressfreien Handling unterstützen. Dieses Ergebnis sollte jedoch auf Grund der nur schwachen Korrelation nicht überbewertet werden. Auch hier sind weiterführende Studien mit höheren Tierzahlen anzuraten.

## 5.4 Zusammenhang verschiedener Immunparameter mit der Fruchtbarkeit

In der vorliegenden Studie wurden in Bezug auf die Untersuchung des Einflusses des Immunsystems auf die Fruchtbarkeit die Serumkonzentration von Haptoglobin (systemisch) und die mRNA-Expression von Zytokinen und der Anteil von PMN in der Gebärmutterschleimhaut (lokal) untersucht.

Für die Serumkonzentrationen des Akute-Phase-Proteins Haptoglobin konnte in den beiden Wartezeitgruppen vor der Besamung an Tag  $38 \pm 3$  p.p. und Tag  $118 \pm 3$  p.p. und einen Tag nach der Besamung kein Zusammenhang mit dem Besamungserfolg oder dem Auftreten von EM festgestellt werden. In einer unveröffentlichten Studie des IFN Schönow e. V. war darüber hinaus nach der Besamung an Tag 10 bis 14 p.i., Tag 24 bis 27 p.i., Tag 34 bis 37 p.i. und Tag 54 bis 57 p.i. ebenfalls kein Zusammenhang mit dem Besamungserfolg bzw. dem Auftreten von EM/FM nachweisbar. In der vorliegenden Studie konnte auch keine Korrelation von Haptoglobin an Tag  $38 \pm 3$  p.p. mit der Rast- und Gützeit der Tiere beobachtet werden. BANOS ET AL. (2013) fanden in einer Milchviehherde, die über einen Zeitraum von 10 Monaten alle zwei Monate beprobt wurde, ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem Serumlevel von Haptoglobin und der Fertilität, dagegen aber einen Zusammenhang mit dem Auftreten von klinischer Mastitis (BANOS ET AL., 2013)

Zusammenfassend weist dies darauf hin, dass die Blutserumkonzentration von Haptoglobin sowohl vor, als auch während der Trächtigkeit kein geeigneter Marker für die Voraussage der Fertilität oder dem Auftreten von EM/FM bei Milchkühen ist bzw. die Fertilität nicht negativ beeinflusst. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass die Serum-Haptoglobin-Konzentrationen an Tag 1 p.i. bei Tieren mit einer freiwilligen Wartezeit von 42 Tagen höher waren, als im Vergleich zu Tieren mit einer freiwilligen Wartezeit von 120 Tagen. Dies deutet darauf hin, dass Milchkühe häufiger unter entzündlichen Geschehen leiden, je näher sie sich dem Zeitpunkt der letzten Abkalbung befinden. Eine Aussage über die Art der entzündlichen Geschehen (Euter, Lunge, Verdauungstrakt) und ob diese einen Einfluss auf die Fruchtbarkeit haben, können die Serum-Haptoglobinspiegel der vorliegenden Studie allerdings nicht geben.

Bezüglich des endometrialen Anteils der PMN, die auf ein entzündliches Geschehen in der Gebärmutterschleimhaut hinweisen (SHELDON ET AL., 2006), decken sich die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie nur teilweise mit der Literatur. Es konnte eine schwache positive Korrelation des endometrialen Anteiles der PMN an Tag  $38 \pm 3$  p.p. mit der Rastzeit aufgezeigt werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass je höher der Anteil der PMN in der Gebärmutterschleimhaut ist, desto länger braucht eine Kuh, bis sie zum ersten Mal besamt wird. Dies ist vermutlich mit der Vorgehensweise zu erklären, dass Tiere, die zum Zeitpunkt der Brunst eine Endometritis aufweisen, in der Regel zur Besamung abgelehnt werden. Ansonsten gibt die Literatur Hinweise darauf, dass ein entzündliches Geschehen in der Gebärmutterschleimhaut zu einem vergleichbaren Zeitpunkt die Gützeit verlängert. Kühe, die an Tag 28 und 42 p.p. unabhängig vom Auftreten vaginalen Ausflusses hohe Proportionen endometrialer PMN zeigten, hatten verlängerte Gützeiten und verschlechterte Trächtigkeitsraten (MCDUGALL ET AL., 2011). Ein Zusammenhang der Höhe der PMN an Tag  $38 \pm 3$  p.p. mit der Gützeit konnte in der vorliegenden Studie allerdings nicht gezeigt werden. Der in Bezug auf endometriale PMN bisher wenig untersuchte Zeitpunkt Tag 1 p.i. in Zusammenhang mit dem Besamungserfolg lieferte allerdings den Hinweis, dass auch zu diesem Zeitpunkt eine Erhöhung der endometrialen PMN die Fruchtbarkeit negativ beeinflusst. Der Anteil endometrialer PMN war an Tag 1 p.i. in der Gruppe der Tiere mit

einer FWZ von 42 Tagen signifikant höher bei den Tieren, bei denen die Besamung nicht erfolgreich war. Eine andere Studie, die den Zusammenhang von endometrialen PMN wenige Stunden nach der Besamung und der Fertilität untersuchte, konnte zeigen, dass zwar ein gewisser Anteil von PMN als förderlich zu beurteilen ist, dass dieser aber mit der Spanne >0 % bis 15 % eingegrenzt werden kann (KAUFMANN ET AL., 2009). In der Studie von KAUFMANN ET AL. (2009) hatte ein erhöhter Anteil von >15 % PMN einen nachteiligen Einfluss auf die Fruchtbarkeit von Milchkühen.

In Bezug auf die untersuchte endometriale mRNA-Expression der Zytokine konnte in der vorliegenden Studie überraschenderweise weitestgehend kein Zusammenhang mit der Fruchtbarkeit der Studientiere gezeigt werden, obwohl dies aufgrund der Assoziation mit Uteruserkrankungen nahe liegt (CHAPWANYA ET AL., 2012; LEBLANC, 2012). Lediglich *IL1B* war an Tag  $38 \pm 3$  p.p. höher exprimiert im Endometrium von Kühen, die der Gruppe „fruchtbar“ zugeordnet wurden, als im Vergleich zu Kühen, die aufgrund von Unfruchtbarkeit den Bestand verlassen mussten. Es ist allerdings der sehr geringe Anteil an Kühen in der Gruppe „unfruchtbar“ ( $n = 3$ ) zu berücksichtigen. Entkräftigt wird diese Beobachtung eines möglichen Zusammenhanges der *IL1B* mRNA-Expression zu diesem Zeitpunkt auch dadurch, dass in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang der Expression von *IL1B* an Tag  $38 \pm 3$  p.p. und dem Besamungserfolg gezeigt werden konnte. Dass dennoch eine Assoziation mit der Fruchtbarkeit bestehen könnte, wird durch HERATH ET AL. (2009) beschrieben, die zeigen, dass sich die endometriale mRNA-Expression von *IL1B* in gesunden und fruchtbaren Kühen von Tag 0 bis 7 p.p. bis Tag 21 bis 49 p.p. signifikant verringert (HERATH ET AL., 2009).

Interessanterweise war bei Kühen, bei denen die Erstbesamung erfolgreich war, die endometriale Expression von *IL1A* in der UG FWZ120 an Tag 1 p.i. höher als bei Tieren, die nicht tragend wurden, obwohl endometriales *IL1A* beispielsweise *in vitro* mit Zellerstörung nach bakterieller Infektion assoziiert werden kann (HEALY ET AL., 2014). Da allerdings keine vergleichbaren Studien vorliegen, die die endometriale mRNA-Expression von *IL1A* an Tag 1 p.i. untersuchen, wären weiterführende Studien notwendig, um den gezeigten Zusammenhang bestätigen zu können.

## 5.5 Zusammenhang von endometrialen Mucinen mit der Fruchtbarkeit

Die aktuelle Studienlage weist darauf hin, dass für die Beurteilung der endometriale mRNA-Expression verschiedener Mucine der Zeitpunkt des Puerperiums bzw. der Trächtigkeit ausschlaggebend ist, um zu beurteilen, ob eine hohe oder niedrige Expression förderlich für die Fruchtbarkeit von Milchkühen wäre. Es kann vermutet werden, dass Mucine einerseits eine Schutzfunktion für die Gebärmutterschleimhaut einnehmen und eine hohe Expression im Falle einer bakteriellen Infektion daher vorteilhaft wäre (BRAYMAN ET AL., 2004; PLUTA ET AL., 2012) und andererseits eine Herabregulierung zum Zeitpunkt der Implantation eines Embryos diese begünstigt (BOWEN ET AL., 1996; JOHNSON ET AL., 2001). DAVIES ET AL. (2008) konnten zeigen, dass Endometriumzellen *in vitro* auf das von Gram-negativen Bakterien ausgeschüttete Endotoxin Lipopolysaccharid mit einer Erhöhung der mRNA-Expression des Mucins *MUC1* reagierten (DAVIES ET AL., 2008). *MUC1* war auch bei Kühen, die während des Puerperiums an Metritis bzw. Endometritis litten, erhöht, wenn diese mit uterusgesunden Kühen verglichen wurden (KASIMANICKAM ET AL., 2014). Da bovine Metritis und Endometritis mit einer bakteriellen Infektion des Uterus assoziiert werden können (SINGH ET AL., 2008; POHL ET AL., 2018), untermauert dies die Annahme, dass endometriale Mucine durch bakterielle Infektionen beeinflusst werden. Auch bei uterusgesunden RBC konnte eine erhöhte endometriale mRNA-Expression von *MUC1*, *MUC4* und *MUC12* beobachtet werden (KASIMANICKAM ET AL., 2014; WAGENER ET AL., 2017B), was darauf hindeutet, dass bei Uterusgesundheit eine erhöhte Mucin-Expression zudem Subfertilität begünstigen kann. Außerdem scheinen Mucine auch zyklusabhängig im Endometrium der Kuh exprimiert zu werden. Bei RBC war die endometriale mRNA-Expression von *MUC5* und *MUC16* im Östrus erhöht (WAGENER ET AL., 2017B).

In der vorliegenden Studie ergab die Untersuchung der endometrialen mRNA-Expression der Mucine *MUC4* und *MUC12* keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Wartezeitgruppen FWZ42 und FWZ120 an Tag 1 p.i.. Dies deutet darauf hin, dass eine unterschiedlich lange Wartezeit keinen Einfluss auf die Mucin-Expression im bovinen Endometrium nach der ersten Besamung hat. Außerdem waren die untersuchten Mucine an Tag  $38 \pm 3$  p.p. bei den Wartezeitgruppen in Abhängigkeit vom späteren Besamungserfolg nicht unterschiedlich exprimiert und auch nicht zur Rast- oder Günstzeit korreliert. Dieser Zeitpunkt des Puerperiums scheint also in Bezug auf das endometriale Vorkommen von Mucinen nicht entscheidend für die spätere Fruchtbarkeit zu sein. Es ist allerdings zu beachten, dass die Uterusgesundheit und der Zyklusstand einen Einfluss haben könnten. Eine Unterteilung nach diesen Kriterien wurde durch das Studiendesign allerdings nicht vorgesehen.

Dennoch gibt die vorliegende Studie Hinweise darauf, dass endometriale Mucine einen Tag nach der Besamung einen Einfluss auf die Fertilität der Kühe haben könnten. In der UG FWZ42 war an Tag 1 p.i. die endometriale mRNA-Expression von *MUC12* bei Kühen, die aus dieser Erstbesamung tragend wurden, höher als bei Kühen, bei denen die Besamung nicht erfolgreich war. Dies deutet darauf hin, dass zu diesem Zeitpunkt, an dem das Uterusmilieu zuvor durch die künstliche Besamung beeinflusst wurde, die zuvor erwähnte Schutzfunktion der Mucine für die Gebärmutter Schleimhaut als für die Fruchtbarkeit der Tiere förderlich interpretiert werden könnte. In der kleineren UG FWZ120 konnte dieser Effekt allerdings nicht beobachtet werden.

Dies ist die erste Studie, in der die bovine endometriale mRNA-Expression von Mucinen an Tag 1 p.i. untersucht wurde. Um die hier gezeigten Hinweise auf die Beteiligung von *MUC12* oder anderen Mucinen an Tag 1 p.i. für die Fruchtbarkeit untermauern zu können, wäre eine weiterführende Studie mit einer höheren Tierzahl notwendig.

## 5.6 Zusammenhang der Stoffwechsellage mit der Fruchtbarkeit

Da erhöhte Blutkonzentrationen der Stoffwechsellageparameter von NEFA und BHB bei der Milchkuh mit Subfertilität (SANTOS ET AL., 2004; EVANS und WALSH, 2011), einer verschlechterten Immunlage (CONTRERAS und SORDILLO, 2011; ESPOSITO ET AL., 2014) und einem erhöhten Risiko für Gebärmutterentzündungen (KAUFMANN ET AL., 2010) assoziiert werden, wurde ein Zusammenhang von hohen NEFA- und BHB-Blutwerten mit dem Ausbleiben einer Trächtigkeit oder dem Auftreten von EM/FM erwartet.

Diese Hypothese konnte in der hier vorliegenden Studie nicht bestätigt werden, da keine Unterschiede in den Blutserumkonzentrationen von NEFA und BHB an Tag 1 p.i. und Tag  $18 \pm 3$  p.i. bei tragenden, nicht-tragenden und Tieren mit EM/FM und darüber hinaus keine Korrelationen zur Rast- und Günstzeit nachgewiesen werden konnten. Diese Ergebnisse bewerten den direkten Einfluss von NEFA und BHB auf die Etablierung einer Trächtigkeit somit als gering.

Vergleicht man allerdings die Konzentrationen von NEFA und BHB an Tag 1 p.i. zwischen den beiden Wartezeitgruppen FWZ42 und FWZ120, ergeben sich signifikant höhere Werte in der UG FWZ42. Zudem lagen an Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 16,36 % der Tiere oberhalb des durch das 75%-Quantil für eine hohe Belastung festgelegten Grenzwertes für NEFA, in der UG FWZ120 waren es zu diesem Zeitpunkt nur 2,64 % der Tiere. Bezüglich BHB lagen an Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 11,9 % der Tiere oberhalb des für eine hohe Belastung festgelegten Grenzwertes, in der UG FWZ120 waren es zu diesem Zeitpunkt nur 1,65 % der Tiere. Tiere der UG FWZ42 zeigten in der vorliegenden Studie wiederum eine schlechtere EBR60, einen schlechteren EBE und einen erhöhten Anteil von EM. Ein

Rückschluss auf eine direkte Assoziation der NEFA und BHB Konzentrationen in den unterschiedlichen Wartezeitgruppen mit der Fruchtbarkeit kann durch diese Art der Auswertung allerdings nicht gezogen werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass anhand der NEFA- und BHB-Blutserumkonzentrationen an Tag 1 p.i. und Tag  $18 \pm 3$  p.i. in der vorliegenden Studie kein direkter Einfluss auf die Etablierung einer Trächtigkeit gezeigt werden kann. Tiere mit einer FWZ von 42 Tagen weisen zum Zeitpunkt der ersten Besamung allerdings höhere Werte von NEFA und BHB im Blutserum auf als Tiere mit einer FWZ von 120 Tagen, was darauf hindeutet, dass Tieren mit einer kürzeren Wartezeit zum Zeitpunkt der ersten Besamung einer höheren Stoffwechselbelastung ausgesetzt sind.

Abschließend ist anzumerken, dass für die genauere Erfassung der Stoffwechselsituation einer Milchkuh eine Summe aus Indikatoren notwendig wäre, wie beispielsweise die Konzentrationen von Ketonkörpern, Glucose, Insulin, IGF1, Leptin und dem Gewichtsabfall der Kuh (ADEWUYI ET AL., 2005). Somit kann die metabolische Situation der Studientiere und deren direkte Assoziation zur Etablierung einer Trächtigkeit durch die Ergebnisse dieser Studie nicht abschließend beurteilt werden. In diesem Kontext sei erwähnt, dass eine umfassendere Studie von STRATMAN ET AL. (2016) keinen Zusammenhang zwischen dem Wachstum des Embryos und dem maternalen Metabolismus, bewertet anhand von Milchmenge, Gewichtsverlust, Laktationszahl und diversen hormonellen und metabolischen Blutparametern, finden konnte (STRATMAN ET AL., 2016).

## 5.7 Zusammenhang von Progesteron mit der Fruchtbarkeit

Die Auswertung der Progesteronwerte im Blut der Studientiere liefert keine bisher unbekanntenen Erkenntnisse in Bezug auf den Zusammenhang mit der Fruchtbarkeit. In der UG FWZ42, in der alle EM zwischen Tag  $32 \pm 3$  p.i. und Tag  $46 \pm 3$  p.i. auftraten und dies allgemein mit einem Abfall der Blutwerte von Progesteron assoziiert wird, waren die Serum-Progesteron-Spiegel an Tag  $46 \pm 3$  p.i. bei den Tieren mit EM signifikant niedriger als bei den tragend gebliebenen Tieren ( $p < 0,001$ ). Dieses Ergebnis untermauert die Richtigkeit der durchgeführten rektalen ultrasonographischen Untersuchungen in Bezug auf das Auftreten von EM.

# 6 Zusammenfassung

Fertilitätsprobleme stellen aktuell deutschlandweit die Hauptabgangsursache für hochleistende Milchkühe dar. Die Besamungserfolge sind rückläufig, was infolge zu einem erhöhten Besamungsaufwand führt. Oftmals wird so früh wie möglich nach der Kalbung wieder besamt (nach Ende des physiologischen Puerperiums ab dem 42. Tag p.p.), um die schlechten Konzeptionsraten auszugleichen. Insgesamt bedeutet dies eine hohe ökonomische Belastung für die Milchviehbetriebe.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob eine Verlängerung der freiwilligen Wartezeit eine Alternative zu diesem Vorgehen darstellen könnte und in besseren Fruchtbarkeitsergebnissen resultiert. Des Weiteren wurden mögliche Zusammenhänge ausgewählter Parameter, die im Blut und in Uterusabstrichen der Milchkühe untersucht wurden, mit dem Ausbleiben einer Trächtigkeit oder dem Auftreten embryonaler bzw. fetaler Mortalität evaluiert.

Die vorliegende Studie wurde auf einem Milchviehbetrieb in Brandenburg durchgeführt. Es wurden Milchkühe einbezogen, die nach Abkalbung entweder schon ab dem 42. Tag p.p. (UG FWZ42) oder erst ab dem 120. Tag p.p. (UG FWZ120) erneut besamt wurden. In der UG FWZ42 wurden alle Tiere an folgenden Zeitpunkten gynäkologisch und ultrasonographisch untersucht und es wurde eine Blutprobe und (bis Tag 1 p.i.) ein Uterusabstrich genommen: Tag  $38 \pm 3$  p.p., Tag 1 p.i., Tag  $18 \pm 3$  p.i. Anschließend wurden die Tiere abhängig vom Trächtigkeitsstatus an Tag  $32 \pm 3$  p.i. Tag  $46 \pm 3$  p.i. und Tag  $60 \pm 3$  p.i. einer Trächtigkeitsuntersuchung und Blutprobenentnahme unterzogen. Ferner wurde die Rückenfettdicke per Ultraschall bestimmt. In der UG FWZ120 wurde zusätzlich an Tag  $118 \pm 3$  p.p. eine Untersuchung und Probennahme durchgeführt.

Die Studie zeigte verbesserte Fruchtbarkeitsergebnisse bei den Tieren mit einer FWZ von 120 Tagen. Der Erstbesamungserfolg dieser Tiere war im Vergleich zur UG FWZ um 10,3 % erhöht. Außerdem traten in dieser Tiergruppe keine embryonalen oder fetalen Mortalitäten (EM/FM) auf, während bei Tieren mit kürzerer FWZ (42 Tage) 8,9 % EM/FM nachgewiesen werden konnten. Die Erstbesamungsrate innerhalb von 60 Tagen nach Abschluss der FWZ lag in der UG FWZ120 bei 100 %, in der UG FWZ42 dagegen bei 92,3 %.

In Bezug auf die Parameter der somatotropen Achse konnte gezeigt werden, dass in der UG FWZ42 bei den tragenden Tieren eine höhere IGF1-Konzentration im Blut vorlag als bei den Tieren, deren Besamung nicht erfolgreich war. In der UG FWZ42 waren an Tag 1 p.i. die Blutwerte für IGF1 signifikant niedriger nachzuweisen als in der UG FWZ120. Außerdem korrelierte die IGF1-Konzentration schon vor KB im Blut der Tiere schwach negativ mit der Rast- und Gützeit. In der UG FWZ42 konnte im Endometrium der trächtigen Tiere an Tag 1 p.i. eine erhöhte mRNA-Expression des Rezeptors für *IGF1* nachgewiesen werden.

Der Stressparameter DHEA war sowohl in der UG FWZ42 als auch in der UG FW120 bei den nicht-tragenden Tieren höher als bei den tragenden Tieren. Der Cortisol/DHEA-Quotient war bei den nicht-tragenden Tieren dagegen niedriger als bei den tragenden. Während der Studienzeit wurden acht Tiere mit EM identifiziert. Bei ihnen wurde ein höherer Cortisol/DHEA-Quotient als bei den nicht-trächtigen Tieren (Tag  $38 \pm 3$  p.p., Tag 1 p.i.) nachgewiesen. Außerdem war die DHEAS Konzentration im Blut dieser acht Tiere im Vergleich zu den nicht-tragenden (Tag  $38 \pm 3$  p.p.) und tragenden (Tag  $18 \pm 3$  p.i.) Kühen erniedrigt.

In Bezug auf den Zusammenhang des endometrialen Immunsystems mit der Fruchtbarkeit konnte ferner gezeigt werden, dass der Anteil endometrialer PMN an Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 bei Kühen höher lag, bei denen die

Besamung nicht erfolgreich war. Bei Kühen, bei denen die Erstbesamung erfolgreich war, war die endometriale mRNA-Expression von *IL1A* in der UG FWZ120 an Tag 1 p.i. höher als bei Tieren, die nicht tragend wurden. Zwischen den Haptoglobin-Konzentrationen im Blut der tragenden und nicht-tragenden Tiere konnte in keiner FWZ-Gruppe ein Unterschied ermittelt werden. Allerdings waren an Tag 1 p.i. in der UG FWZ42 höheren Blutplasmakonzentrationen von Haptoglobin nachzuweisen als bei den Tieren der UG FWZ120.

In den Gebärmutterschleimhautabstrichen der tragenden Tiere der UG FWZ42 konnte an Tag 1 p.i. ein Anstieg der mRNA-Expression von *MUC12* im Vergleich zu Kühen ohne erfolgreiche Erstbesamung gezeigt werden.

Die Ergebnisse der Stoffwechselformparameter-Analyse zeigen keine Unterschiede in den Blutserumkonzentrationen von NEFA und BHB an Tag 1 p.i. und Tag  $18 \pm 3$  p.i. bei tragenden und nicht-tragenden Tieren und Tieren mit EM/FM. Darüber hinaus konnte keine Korrelationen zur Rast- und Günstzeit nachgewiesen werden. Vergleicht man allerdings die Konzentrationen von NEFA und BHB an Tag 1 p.i. zwischen den beiden Wartezeitgruppen ergeben sich signifikant höhere Werte in der UG FWZ42.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass der Organismus von Tiere mit einer FWZ von 42 Tagen im Vergleich zu 120 Tagen zum Zeitpunkt der ersten Besamung oftmals höheren Belastungen ausgesetzt ist (IGF1, NEFA, BHB, Haptoglobin) und dass eine Erhöhung der FWZ sinnvoll sein könnte, um die Fruchtbarkeitsergebnisse zu verbessern. Dabei sollte in der Praxis aber unbedingt beachtet werden, dass dieses Vorgehen eine optimale Brunstbeobachtung und -nutzung voraussetzt. Außerdem wird dringend empfohlen die Tiere bei Verlängerung der FWZ wie in der vorliegenden Studie schon vor dem Besamungszeitpunkt gynäkologisch zu untersuchen, so dass sie nach Ablauf einer verlängerten FWZ tatsächlich besamungsbereit sind.

Aus den Analysen des Blutes und der Gebärmutterschleimhautabstriche kann geschlussfolgert werden, dass die somatotrope Achse einen Einfluss auf das Fruchtbarkeitsgeschehen des Rindes haben könnte. IGF1, welches bei Tieren ohne erfolgreiche Besamung erniedrigt war, könnte in Zukunft eventuell als prognostischer Marker für die Fertilitätsbeurteilung einer Kuh genutzt werden. Die in dieser Studie nachgewiesene negative Korrelation mit der Günstzeit der Versuchstiere gibt einen weiteren Hinweis auf die potentielle Aussagekraft dieses Parameters. Diese Korrelation darf aufgrund ihres nur schwachen Zusammenhangs allerdings nicht überbewertet werden. Außerdem zeigt die Studie die mögliche Bedeutung des lokalen endometrialen IGF-Systems (*IGF1R* und *PAPPA*), dessen Rolle in weiteren Studien genauer untersucht werden sollte.

Die DHEA-Konzentrationen geben Hinweise, dass Tiere, bei denen sich der mit Stress assoziierte Parameter DHEA erhöht, schlechter tragend werden. Dies unterstreicht die Wichtigkeit der weiterführenden Untersuchung der möglichen Stressbelastungen in einer Milchviehherde. Außerdem gibt die Studie Hinweise darauf, dass auch der Cortisol/DHEA-Quotient in Zusammenhang mit der Fruchtbarkeit stehen könnte. Um die Assoziation dieser Parameter mit der Fruchtbarkeit abschließend bewerten zu können, sind weiterführende Studien notwendig.

Am Tag nach der Besamung scheint auch der Anteil von PMN (Immunzellen) in der Gebärmutterschleimhaut in Zusammenhang mit der Fruchtbarkeit zu stehen. Dies unterstreicht die Bedeutung einer adäquaten Reaktion des Immunsystems in der Gebärmutter für die Fertilität der Milchkuh, die womöglich mit Verlängerung der FWZ verbessert werden kann. Anhand der an Tag 1 p.i. gemessenen mRNA-Expression in der Gebärmutterschleimhaut kann zudem vermutet werden, dass *MUC12* und *IL1A* mit dem Besamungserfolg der Kuh in Verbindung stehen. Diese Erkenntnisse sind besonders interessant, da keine weiteren Studien vorliegen, die die Genexpression dieser Parameter in der Gebärmutterschleimhaut von Kühen zu diesem Zeitpunkt untersucht haben. Demnach zeigt die vorliegende Studie, dass weitere Untersuchungen der Gebärmutterschleimhaut von Kühen kurz nach der Besamung an

größeren Tiergruppen sinnvoll sind, um die Bedeutung verschiedener Parameter für die Fertilität und physiologische Funktion zu evaluieren.

Zusammenfassend gibt die vorliegende Studie erste Hinweise darauf, dass eine Verbesserung der Fruchtbarkeit von Milchkühen durch die Verlängerung der freiwilligen Wartezeit von 42 auf 120 Tage im Zusammenhang mit Parametern der somatotropen Achse und der Stressbelastung stehen könnte. Eine mögliche Empfehlung zur Evaluierung von potentiell geeignete Parametern für die Unterstützung der Festlegung der tierindividuellen freiwilligen Wartezeit wäre die weiterführende Untersuchung von IGF1 und DHEA in Kombination mit anderen tierindividuellen Daten, wie beispielsweise der Milchleistung, zum Ende des Puerperiums.

# Literaturverzeichnis

- ABDALLAH, A., HEWSON, J., FRANCOZ, D., SELIM, H., BUCZINSKI, S. (2016): Systematic Review of the Diagnostic Accuracy of Haptoglobin, Serum Amyloid A, and Fibrinogen versus Clinical Reference Standards for the Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *J Vet Intern Med* 30: 1356-1368
- ABRAHAM, G.E. (1974): Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 39: 340-346
- ACCORSI, P.A., GOVONI, N., GAIANI, R., PEZZI, C., SEREN, E., TAMANINI, C. (2005): Leptin, GH, PRL, insulin and metabolic parameters throughout the dry period and lactation in dairy cows. *Reprod Domestic Anim* 40: 217-223
- ADEWUYI, A.A., GRUYS, E., VAN EERDENBURG, F.J.C.M. (2005): Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly* 27:3: 117-126
- ALMEIDA, P.E., WEBER, P.S., BURTON, J.L., ZANELLA, A.J. (2008): Depressed DHEA and increased sickness response behaviors in lame dairy cows with inflammatory foot lesions. *Domest Anim Endocrinol* 34: 89-99
- APOSTOLOVA, G., SCHWEIZER, R.A., BALAZS, Z., KOSTADINOVA, R.M., ODERMATT, A. (2005): Dehydroepiandrosterone inhibits the amplification of glucocorticoid action in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288: E957-964
- ASHWORTH, M.D., ROSS, J.W., STEIN, D.R., ALLEN, D.T., SPICER, L.J., GEISERT, R.D. (2005): Endocrine disruption of uterine insulin-like growth factor expression in the pregnant gilt. *Reproduction* 130: 545-551
- BANOS, G., WALL, E., COFFEY, M.P., BAGNALL, A., GILLESPIE, S., RUSSELL, G.C., MCNEILLY, T.N. (2013): Identification of immune traits correlated with dairy cow health, reproduction and productivity. *PLoS ONE* 8: e65766
- BARTLETT, D. (1998): *Stress: Perspectives and processes*. McGraw Hill Education
- BEAM, S.W., BUTLER, W.R. (1997): Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation post-partum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod* 56: 133-142
- BLAUER, K.L., POTH, M., ROGERS, W.M., BERNTON, E.W. (1991): Dehydroepiandrosterone antagonizes the suppressive effects of dexamethasone on lymphocyte proliferation. *Endocrinology* 129: 3174-3179
- BLOCK, J. (2007): Use of insulin-like growth factor-1 to improve post-transfer survival of bovine embryos produced in vitro. *Theriogenology* 68 Suppl 1: S49-55
- BLOCK, J., FISCHER-BROWN, A.E., RODINA, T.M., EALY, A.D., HANSEN, P.J. (2007): The effect of in vitro treatment of bovine embryos with IGF-1 on subsequent development in utero to Day 14 of gestation. *Theriogenology* 68: 153-161
- BONILLA, A.Q., OLIVEIRA, L.J., OZAWA, M., NEWSOM, E.M., LUCY, M.C., HANSEN, P.J. (2011a): Developmental changes in thermoprotective actions of insulin-like growth factor-1 on the preimplantation bovine embryo. *Mol Cell Endocrinol* 332: 170-179
- BONILLA, A.Q., OZAWA, M., HANSEN, P.J. (2011b): Timing and dependence upon mitogen-activated protein kinase signaling for pro-developmental actions of insulin-like growth factor 1 on the preimplantation bovine embryo. *Growth Horm IGF Res* 21: 107-111
- BOWEN, J.A., BAZER, F.W., BURGHARDT, R.C. (1996): Spatial and temporal analyses of integrin and Muc-1 expression in porcine uterine epithelium and trophectoderm in vivo. *Biol Reprod* 55: 1098-1106
- BRAYMAN, M., THATHIAH, A., CARSON, D.D. (2004): MUC1: a multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelia. *Reprod Biol Endocrinol* 2: 4
- BRODZKI, P., KOSTRO, K., KRAKOWSKI, L., MARCZUK, J. (2015): Inflammatory cytokine and acute phase protein concentrations in the peripheral blood and uterine washings of cows with subclinical endometritis in the late postpartum period. *Vet Res Commun* 39: 143-149
- BRS (2018): *Rinderproduktion in Deutschland 2017*. Bundesverband Rind und Schwein e. V.: ISSN 1439-8745
- BURCHFIELD, S.R. (1979): The stress response: a new perspective. *Psychosom Med* 41: 661-672



- BURDICK, N.C., RANDEL, R.D., CARROLL, J.A., WELSH, T.H. (2011): Interactions between Temperament, Stress, and Immune Function in Cattle. *International Journal of Zoology* 2011
- BUSATO, A., FAISSE, D., KUPFER, U., BLUM, J.W. (2002): Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 49: 455-460
- BUTCHER, S.K., KILLAMPALLI, V., LASCELLES, D., WANG, K., ALPAR, E.K., LORD, J.M. (2005): Raised cortisol:DHEAS ratios in the elderly after injury: potential impact upon neutrophil function and immunity. *Aging Cell* 4: 319-324
- BUTLER, S.T., MARR, A.L., PELTON, S.H., RADCLIFF, R.P., LUCY, M.C., BUTLER, W.R. (2003): Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J Endocrinol* 176: 205-217
- CARROLL, J.A., BURDICK SANCHEZ, N.C. (2014): Bill E. Kunkle Interdisciplinary Beef Symposium: Overlapping physiological responses and endocrine biomarkers that are indicative of stress responsiveness and immune function in beef cattle. *J Anim Sci* 92: 5311-5318
- CHROUSOS, G.P., GOLD, P.W. (1992): The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267: 1244-1252
- CLERICI, M., TRABATTONI, D., PICONI, S., FUSI, M.L., RUZZANTE, S., CLERICI, C., VILLA, M.L. (1997): A possible role for the cortisol/anticortisol imbalance in the progression of human immunodeficiency virus. *Psychoneuroendocrinology* 22 Suppl 1: S27-31
- COLLETT-SOLBERG, P.F., COHEN, P. (2000): Genetics, chemistry, and function of the IGF/IGFBP system. *Endocrine* 12: 121-136
- CONOVER, C.A. (2012): Key questions and answers about pregnancy-associated plasma protein-A. *Trends Endocrinol Metab* 23: 242-249
- CONTRERAS, G.A., SORDILLO, L.M. (2011): Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 34: 281-289
- COMMITTEE ON BOVINE REPRODUCTIVE NOMENCLATURE (1972): Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell Vet* 62: 216-237
- COORAY, R., BJORCK, L. (1995): Bactericidal activity of the bovine myeloperoxidase system against bacteria associated with mastitis. *Vet Microbiol* 46: 427-434
- CUTLER, G.B., JR., DAVIS, S.E., JOHNSONBAUGH, R.E., LORIAUX, D.L. (1979): Dissociation of cortisol and adrenal androgen secretion in patients with secondary adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 49: 604-609
- DAVIES, D., MEADE, K., HERATH, S., ECKERSALL, P.D., GONZALEZ, D., WHITE, J., CONLAN, R.S., O'FARRELLY, C., SHELDON, I.M. (2008): Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reproductive Biology and Endocrinology* 6: 53
- DEIBING, F. (2018): Erprobung einer verlängerten freiwilligen Wartezeit bis zur Besamung in zwei unterschiedlichen thüringischen Betrieben. Masterarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin
- DISKIN, M.G., MORRIS, D.G. (2008): Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim* 43 Suppl 2: 260-267
- DOBSON, H., SMITH, R.F. (2000): What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim Reprod Sci* 60-61: 743-752
- ECKERSALL, P.D., BELL, R. (2010): Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J* 185: 23-27
- ENDO, A., KRISTIANSEN, S.B., CASSON, P.R., BUSTER, J.E., HORNSBY, P.J. (1996): The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex

resulting from its low expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3558-3565

- ESPOSITO, G., IRONS, P.C., WEBB, E.C., CHAPWANYA, A. (2014): Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Anim Reprod Sci* 144: 60-71.
- EVANS, A.C., WALSH, S.W. (2011): The physiology of multifactorial problems limiting the establishment of pregnancy in dairy cattle. *Reprod Fertil Dev* 24: 233-237
- FISCHER, C., DRILLICH, M., ODAU, S., HEUWIESER, W., EINSPANIER, R., GABLER, C. (2010): Selected pro-inflammatory factor transcripts in bovine endometrial epithelial cells are regulated during the oestrous cycle and elevated in case of subclinical or clinical endometritis. *Reprod Fertil Dev* 22: 818-829
- FRAGO, L.M., CHOWEN, J.A. (2005): Basic physiology of the growth hormone/insulin-like growth factor axis. *Adv Exp Med Biol* 567: 1-25
- FUSTINI, M., GALEATI, G., GABAI, G., MAMMI, L.E., BUCCI, D., BARATTA, M., ACCORSI, P.A., FORMIGONI, A. (2017): Overstocking dairy cows during the dry period affects dehydroepiandrosterone and cortisol secretion. *J Dairy Sci* 100: 620-628
- GABLER, C., DRILLICH, M., FISCHER, C., HOLDER, C., HEUWIESER, W., EINSPANIER, R. (2009): Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology* 71: 993-1004
- GALLAGHER, P., WATSON, S., SMITH, M.S., YOUNG, A.H., FERRIER, I.N. (2007): Plasma cortisol-dehydroepiandrosterone (DHEA) ratios in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res* 90: 258-265
- GOBIKRUSHANTH, M., SALEHI, R., AMBROSE, D.J., COLAZO, M.G. (2016): Categorization of endometritis and its association with ovarian follicular growth and ovulation, reproductive performance, dry matter intake, and milk yield in dairy cattle. *Theriogenology* 86: 1842-1849
- GROSS, J., VAN DORLAND, H.A., SCHWARZ, F.J., BRUCKMAIER, R.M. (2011): Endocrine changes and liver mRNA abundance of somatotrophic axis and insulin system constituents during negative energy balance at different stages of lactation in dairy cows. *J Dairy Sci* 94: 3484-3494
- GUILLIAMS, T.G., EDWARDS, L. (2010): Chronic stress and the HPA axis. *The Standard* 2: 1-12
- HEALY, L.L., CRONIN, J.G., SHELDON, I.M. (2014): Endometrial cells sense and react to tissue damage during infection of the bovine endometrium via interleukin 1. *Sci Rep* 4: 7060
- HERATH, S., LILLY, S.T., SANTOS, N.R., GILBERT, R.O., GOETZE, L., BRYANT, C.E., WHITE, J.O., CRONIN, J., SHELDON, I.M. (2009): Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 7: 55
- HOEBEN, D., MONFARDINI, E., OPSOMER, G., BURVENICH, C., DOSOGNE, H., DE KRUIF, A., BECKERS, J.F. (2000): Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leucocytes during the periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *J Dairy Res* 67: 249-259
- HORNE, A.W., LALANI, E.N., MARGARA, R.A., RYDER, T.A., MOBBERLEY, M.A., WHITE, J.O. (2005): The expression pattern of MUC1 glycoforms and other biomarkers of endometrial receptivity in fertile and infertile women. *Mol Reprod Dev* 72: 216-229
- HU, Y., CARDOUNEL, A., GURSOY, E., ANDERSON, P., KALIMI, M. (2000): Anti-stress effects of dehydroepiandrosterone: protection of rats against repeated immobilization stress-induced weight loss, glucocorticoid receptor production, and lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 59: 753-762
- HUSSAIN, A.M. (1989): Bovine uterine defense mechanisms: a review. *Zentralbl Veterinarmed B* 36: 641-651.
- INCHAISRI, C., JORRITSMA, R., VOS, P.L., VAN DER WEIJDEN, G.C., HOGEVEEN, H. (2010): Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 74: 835-846

- IZAWA, S., SUGAYA, N., SHIROTSUKI, K., YAMADA, K.C., OGAWA, N., OUCHI, Y., NAGANO, Y., SUZUKI, K., AND NOMURA, S. (2008). Salivary dehydroepiandrosterone secretion in response to acute psychosocial stress and its correlations with biological and psychological changes. *Biol Psychol* 79: 294-298
- JECKEL, C.M., LOPES, R.P., BERLEZE, M.C., LUZ, C., FEIX, L., ARGIMON, II, STEIN, L.M., BAUER, M.E. (2010): Neuroendocrine and immunological correlates of chronic stress in 'strictly healthy' populations. *Neuroimmunomodulation* 17: 9-18
- JESSEN, L. (2018). Assoziation von metabolischen und endokrinen Faktoren mit dem Ausbleiben einer Trächtigkeit bei Holstein Friesian Kühen unter besonderer Berücksichtigung embryonaler Mortalität. Dissertation, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
- JOHNSON, G.A., BAZER, F.W., JAEGER, L.A., KA, H., GARLOW, J.E., PFARRER, C., SPENCER, T.E., BURGHARDT, R.C. (2001): Muc-1, integrin, and osteopontin expression during the implantation cascade in sheep. *Biol Reprod* 65: 820-828
- KASIMANICKAM, R., KASIMANICKAM, V., KASTELIC, J.P. (2014): Mucin 1 and cytokines mRNA in endometrium of dairy cows with postpartum uterine disease or repeat breeding. *Theriogenology* 81: 952-958.e952
- KAUFMANN, T.B., DRILLICH, M., TENHAGEN, B.A., FORDERUNG, D., HEUWIESER, W. (2009): Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology* 71: 385-391
- KAUFMANN, T.B., DRILLICH, M., TENHAGEN, B.A., HEUWIESER, W. (2010): Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC Vet Res* 6: 47
- KAWASHIMA, C., SAKAGUCHI, M., SUZUKI, T., SASAMOTO, Y., TAKAHASHI, Y., MATSUI, M., MIYAMOTO, A. (2007): Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. *J Reprod Dev* 53: 113-120
- KOLLE, S., SINOWATZ, F., BOIE, G., LINCOLN, D., WATERS, M.J. (1997): Differential expression of the growth hormone receptor and its transcript in bovine uterus and placenta. *Mol Cell Endocrinol* 131: 127-136
- KOOLHAAS, J.M., BARTOLOMUCCI, A., BUWALDA, B., DE BOER, S.F., FLUGGE, G., KORTE, S.M., MEERLO, P., MURISON, R., OLIVIER, B., PALANZA, P., RICHTER-LEVIN, G., SGOIFO, A., STEIMER, T., STIEDL, O., VAN DIJK, G., WOHR, M., FUCHS, E. (2011): Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 1291-1301
- LADEWIG, J. (2000): Chronic intermittent stress: a model for the study of long-term stressors. *The biology of animal stress*: 159-169
- LAWRENCE, J.B., OXVIG, C., OVERGAARD, M.T., SOTTRUP-JENSEN, L., GLEICH, G.J., HAYS, L.G., YATES, J.R., CONOVER, C.A. (1999): The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 3149-3153
- LEBLANC, S.J. (2012): Interactions of Metabolism, Inflammation, and Reproductive Tract Health in the Postpartum Period in Dairy Cattle. *Reprod Domest Anim* 47: 18-30
- LENNARTSSON, A.K., KUSHNIR, M.M., BERGQUIST, J., JONSDOTTIR, I.H. (2012): DHEA and DHEA-S response to acute psychosocial stress in healthy men and women. *Biol Psychol* 90: 143-149
- LEOWATTANA, W. (2004): DHEAS as a new diagnostic tool. *Clin Chim Acta* 341: 1-15
- LEROITH, D., WERNER, H., BEITNER-JOHNSON, D., ROBERTS, C.T., JR. (1995): Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 16: 143-163
- LI, L., FERIN, M., SAUER, M.V., LOBO, R.A. (2011): Dehydroepiandrosterone in follicular fluid is produced locally, and levels correlate negatively with in vitro fertilization outcomes. *Fertil Steril* 95: 1830-1832

- LUCY, M.C., VERKERK, G.A., WHYTE, B.E., MACDONALD, K.A., BURTON, L., CURSONS, R.T., ROCHE, J.R., HOLMES, C.W. (2009): Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *J Dairy Sci* 92: 526-539
- MATTERI, R.L., CARROLL, J.A., DYER, C.J. (2000): Neuroendocrine Responses to Stress. *The biology of animal stress*: 43-76
- MAYADAS, T.N., CULLERE, X., LOWELL, C.A. (2014). The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 9: 181-218
- MAZERBOURG, S., OVERGAARD, M.T., OXVIG, C., CHRISTIANSEN, M., CONOVER, C.A., LAURENDEAU, I., VIDAUD, M., TOSSER-KLOPP, G., ZAPF, J., MONGET, P. (2001): Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in ovine, bovine, porcine, and equine ovarian follicles: involvement in IGF binding protein-4 proteolytic degradation and mRNA expression during follicular development. *Endocrinology* 142: 5243-5253
- MCDUGALL, S., HUSSEIN, H., ABERDEIN, D., BUCKLE, K., ROCHE, J., BURKE, C., MITCHELL, M., MEIER, S. (2011): Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 76: 229-240
- MC EWEN, B.S., WINGFIELD, J.C. (2003): The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav* 43: 2-15
- MENSE, K., HEIDEKORN-DETTMER, J., WIRTHGEN, E., BROCKELMANN, Y., BORTFELDT, R., PETER, S., JUNG, M., HOF LICH, C., HOEF LICH, A., SCHMICKE, M. (2018): Increased Concentrations of Insulin-Like Growth Factor Binding Protein (IGFBP)-2, IGFBP-3, and IGFBP-4 Are Associated With Fetal Mortality in Pregnant Cows. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9: 310
- MENSE, K., MEYERHOLZ, M., GIL ARAUJO, M., LIETZAU, M., KNAACK, H., WRENZYCKI, C., HOEDEMAKER, M., PIECHOTTA, M. (2015): The somatotropic axis during the physiological estrus cycle in dairy heifers--Effect on hepatic expression of GHR and SOCS2. *J Dairy Sci* 98: 2409-2418
- MONZAVI, R., COHEN, P. (2002). IGFs and IGFBPs: role in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16: 433-447
- MORMEDE, P., ANDANSON, S., AUPERIN, B., BEERDA, B., GUEMENE, D., MALMKVIST, J., MANTECA, X., MANTEUFFEL, G., PRUNET, P., VAN REENEN, C.G., RICHARD, S., VEISSIER, I. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92: 317-339
- NEGRO-VILAR, A. (1993): Stress and other environmental factors affecting fertility in men and women: overview. *Environ Health Perspect* 101 Suppl 2: 59-64
- NEIRA, J.A., TAINURIER, D., PENA, M.A., MARTAL, J. (2010): Effect of the association of IGF-I, IGF-II, bFGF, TGF-beta1, GM-CSF, and LIF on the development of bovine embryos produced in vitro. *Theriogenology* 73: 595-604
- NEPOMNASCHY, P.A., WELCH, K.B., MCCONNELL, D.S., LOW, B.S., STRASSMANN, B.I., ENGLAND, B.G. (2006): Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 3938-3942
- NING, Y., SCHULLER, A.G., CONOVER, C.A., PINTAR, J.E. (2008): Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-4 is both a positive and negative regulator of IGF activity in vivo. *Mol Endocrinol* 22: 1213-1225
- NIOZAS, G., TSOUSIS, G., MALESIOS, C., STEINHOFEL, I., BOSCOS, C., BOLLWEIN, H., KASKE, M. (2019a): Extended lactation in high-yielding dairy cows. II. Effects on milk production, udder health, and body measurements. *J Dairy Sci* 102: 811-823
- NIOZAS, G., TSOUSIS, G., STEINHOFEL, I., BROZOS, C., ROMER, A., WIEDEMANN, S., BOLLWEIN, H., KASKE, M. (2019b): Extended lactation in high-yielding dairy cows. I. Effects on reproductive measurements. *J Dairy Sci* 102: 799-810
- ODELL, W.D., PARKER, L.N. (1984): Control of adrenal androgen production. *Endocr Res* 10: 617-630

- PARKER, C.R., JR. (1999): Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging. *Steroids* 64: 640-647
- PETER, S., MICHEL, G., HAHN, A., IBRAHIM, M., LUBKE-BECKER, A., JUNG, M., EINSPANIER, R., GABLER, C. (2015). Puerperal influence of bovine uterine health status on the mRNA expression of pro-inflammatory factors. *J Physiol Pharmacol* 66: 449-462
- PFARRER, C., MÜLLING, C., REESE, S., KÖLLE, S., BUDRAS, K. (2017): *Atlas der Anatomie des Rindes*, Schlütersche, 2. ergänzte und aktualisierte Auflage
- PIECHOTTA, M., MYSEGADES, W., LIGGES, U., LILIENTHAL, J., HOEFELICH, A., MIYAMOTO, A., BOLLWEIN, H. (2015): Ante-partal insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor binding protein 2 concentrations are indicative of ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 98: 3100-3109
- PIECHOTTA, M., SANDER, A.K., KASTELIC, J.P., WILDE, R., HEPELMANN, M., RUDOLPHI, B., SCHUBERTH, H.J., BOLLWEIN, H., KASKE, M. (2012): Short communication: Prepartum plasma insulin-like growth factor-I concentrations based on day of insemination are lower in cows developing postpartum diseases. *J Dairy Sci* 95: 1367-1370
- PLUTA, K., MCGETTIGAN, P.A., REID, C.J., BROWNE, J.A., IRWIN, J.A., THARMALINGAM, T., CORFIELD, A., BAIRD, A., LOFTUS, B.J., EVANS, A.C., CARRINGTON, S.D. (2012): Molecular aspects of mucin biosynthesis and mucus formation in the bovine cervix during the peri-estrous period. *Physiol Genomics* 44: 1165-1178
- POHL, A., LÜBKE-BECKER, A., HEUWIESER, W. (2018): Minimum inhibitory concentrations of frequently used antibiotics against *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* isolated from uteri of postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 101: 1355-1364
- RADCLIFF, R.P., MCCORMACK, B.L., CROOKER, B.A., LUCY, M.C. (2003): Growth hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1A mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 86: 3933-3940
- RAINEY, W.E., CARR, B.R., SASANO, H., SUZUKI, T., MASON, J.I. (2002): Dissecting human adrenal androgen production. *Trends Endocrinol Metab* 13: 234-239
- RAJARAM, S., BAYLINK, D.J., MOHAN, S. (1997): Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 18: 801-831
- RENAVILLE, R., HAMMADI, M., PORTETELLE, D. (2002): Role of the somatotrophic axis in the mammalian metabolism. *Domest Anim Endocrinol* 23: 351-360
- RHOADS, R.P., KIM, J.W., LEURY, B.J., BAUMGARD, L.H., SEGOALE, N., FRANK, S.J., BAUMAN, D.E., BOISCLAIR, Y.R. (2004): Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. *J Nutr* 134: 1020-1027
- RITSNER, M., MAAYAN, R., GIBEL, A., STROUS, R.D., MODAI, I., WEIZMAN, A. (2004): Elevation of the cortisol/dehydroepiandrosterone ratio in schizophrenia patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 14: 267-273.
- RIVIER, C., RIVEST, S. (1991): Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol Reprod* 45: 523-532.
- ROBINSON, R.S., MANN, G.E., GADD, T.S., LAMMING, G.E., WATHES, D.C. (2000): The expression of the IGF system in the bovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy. *J Endocrinol* 165: 231-243
- ROMERO, M.L., BUTLER, L.K. (2007): Endocrinology of stress. *International Journal of Comparative Psychology* 20: 89-95
- ROSENFELD, R.S., ROSENBERG, B.J., FUKUSHIMA, D.K., HELLMAN, L. (1975): 24-Hour secretory pattern of dehydroisoandrosterone and dehydroisoandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab* 40: 850-855
- SADEK, K., SALEH, E., AYOUB, M. (2017): Selective, reliable blood and milk bio-markers for diagnosing clinical and subclinical bovine mastitis. *Trop Anim Health Prod* 49: 431-437

- SANTOS, J.E., THATCHER, W.W., CHEBEL, R.C., CERRI, R.L., GALVAO, K.N. (2004): The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 82-83: 513-535
- SAPOLSKY, R.M. (1987): Stress, social status, and reproductive physiology in free-living baboons. *Psychobiology of reproductive behaviour: An evolutionary perspective*: 291-322
- SAPOLSKY, R.M. (1992): Do glucocorticoid concentrations rise with the age of the rat? *Neurobiol Aging* 13: 171-174
- SHELDON, I.M., CRONIN, J., GOETZE, L., DONOFRIO, G., SCHUBERTH, H.J. (2009a): Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod* 81: 1025-1032
- SHELDON, I.M., CRONIN, J.G., HEALEY, G.D., GABLER, C., HEUWIESER, W., STREYL, D., BROMFIELD, J.J., MIYAMOTO, A., FERGANI, C., DOBSON, H. (2014): Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. *Reproduction* 148: R41-51
- SHELDON, I.M., LEWIS, G.S., LEBLANC, S., GILBERT, R.O. (2006): Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516-1530
- SHELDON, I.M., PRICE, S.B., CRONIN, J., GILBERT, R.O., GADSBY, J.E. (2009b): Mechanisms of Infertility Associated with Clinical and Subclinical Endometritis in High Producing Dairy Cattle. *Reprod Domestic Anim* 44: 1-9
- SHERIFF, M.J., DANTZER, B., DELEHANTY, B., PALME, R., BOONSTRA, R. (2011): Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* 166: 869-887
- SINGH, J., MURRAY, R.D., MSHELIA, G., WOLDEHIWET, Z. (2008): The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *Vet J* 175: 301-309
- SPOERER, K.R., XIAO, L., TEMPELMAN, R.J., BURTON, J.L., EARLEY, B., CROWE, M.A. (2008): Transportation stress alters the circulating steroid environment and neutrophil gene expression in beef bulls. *Vet Immunol Immunopathol* 121: 300-320
- STASSI, A.F., BARAVALLE, M.E., BELOTTI, E.M., REY, F., GAREIS, N.C., DIAZ, P.U., RODRIGUEZ, F.M., LEIVA, C.J., ORTEGA, H.H., SALVETTI, N.R. (2017): Altered expression of cytokines IL-1alpha, IL-6, IL-8 and TNF-alpha in bovine follicular persistence. *Theriogenology* 97: 104-112
- STER, C., LOISELLE, M.C., LACASSE, P. (2012): Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J Dairy Sci* 95: 708-717
- STRATMAN, T.J., MOORE, S.G., LAMBERSON, W.R., KEISLER, D.H., POOCK, S.E., LUCY, M.C. (2016): Growth of the conceptus from day 33 to 45 of pregnancy is minimally associated with concurrent hormonal or metabolic status in postpartum dairy cows. *Anim Reprod Sci* 168: 10-18
- SUMMERS, A.F., POHLMEIER, W.E., SARGENT, K.M., COLE, B.D., VINTON, R.J., KURZ, S.G., MCFEE, R.M., CUSHMAN, R.A., CUPP, A.S., WOOD, J.R. (2014): Altered theca and cumulus oocyte complex gene expression, follicular arrest and reduced fertility in cows with dominant follicle follicular fluid androgen excess. *PLoS ONE* 9: e110683
- TAYLOR, V.J., BEEVER, D.E., WATHES, D.C. (2004): Physiological Adaptations to Milk Production that Affect the Fertility of High Yielding Dairy Cows. *BSAP Occasional Publication* 29: 37-71
- TILBROOK, A.J., TURNER, A.I., CLARKE, I.J. (2002): Stress and reproduction: central mechanisms and sex differences in non-rodent species. *Stress* 5: 83-100
- ULLRICH, A., GRAY, A., TAM, A.W., YANG-FENG, T., TSUBOKAWA, M., COLLINS, C., HENZEL, W., LE BON, T., KATHURIA, S., CHEN, E. (1986): Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J* 5: 2503-2512
- VELAZQUEZ, M.A., SPICER, L.J., WATHES, D.C. (2008): The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domest Anim Endocrinol* 35: 325-342

- VON ENGELHARDT, W., BREVES, G., DIENER, M., GÄBEL, G., ARNOLD, W. (2015): *Physiology der Haussäugetiere*. Enke Verlag
- WAGENER, K., GABLER, C., DRILLICH, M. (2017a): A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology* 94: 21-30
- WAGENER, K., POTHMANN, H., PRUNNER, I., PETER, S., ERBER, R., AURICH, C., DRILLICH, M., GABLER, C. (2017b): Endometrial mRNA expression of selected pro-inflammatory factors and mucins in repeat breeder cows with and without subclinical endometritis. *Theriogenology* 90: 237-244
- WATHES, D.C., CHENG, Z., BOURNE, N., TAYLOR, V.J., COFFEY, M.P., BROTHERSTONE, S. (2007): Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest Anim Endocrinol* 33: 203-225
- WATHES, D.C., CHENG, Z., FENWICK, M.A., FITZPATRICK, R., PATTON, J. (2011): Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow. *Reproduction* 141: 269-281
- WINGFIELD, J.C., HUNT, K., BREUNER, C., DUNLAP, K., FOWLER, G.S., FREED, L., LEPSON, J. (1997): *Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology*. Cambridge University Press: 95-131
- WRIGHT, A.J., SOTO, N.A., BALDWIN, A.L., BATESON, M., BEALE, C.M., CLARK, C., DEAK, T., EDWARDS, E.F., FERNÁNDEZ, A., GODINHO, A. (2007): Anthropogenic noise as a stressor in animals: a multidisciplinary perspective. *International Journal of Comparative Psychology* 20: 250-273
- ZHOU, J., WANG, J., PENNY, D., MONGET, P., ARRAZTOA, J.A., FOGELSON, L.J., BONDY, C.A. (2003): Insulin-like growth factor binding protein 4 expression parallels luteinizing hormone receptor expression and follicular luteinization in the primate ovary. *Biol Reprod* 69: 22-29

**Herausgeber:**

Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG)  
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden  
Telefon: + 49 351 2612-0  
Telefax: + 49 351 2612-1099  
E-Mail: lfulg@smul.sachsen.de  
www.lfulg.sachsen.de

**Autor:**

Markus Jung, Kirsten Mense, Sarah Peter, Levke Jessen  
IFN Schönow e. V.  
OT Schönow, Bernauer Allee 10; 16321 Bernau  
Telefon: + 49 3338 3414400  
Telefax: + 49 3338 3414420  
E-Mail: info@ifn-schoenow.de

**Redaktion:**

Ilka Steinhöfel, Ramona Klee  
Abteilung 7/Referat Tierhaltung  
Am Park 3; 04886 Köllitsch  
Telefon: + 49 34222 462212  
Telefax: + 49 34222 462099  
E-Mail: ilka.steinhoefel@smul.sachsen.de

**Fotos:**

Anja Peters, IFN

**Redaktionsschluss:**

26.03.2020

**ISSN:**

1867-2868

**Hinweis:**

Die Broschüre steht nicht als Printmedium zur Verfügung, kann aber als PDF-Datei unter <https://publikationen.sachsen.de/> heruntergeladen werden.

**Verteilerhinweis**

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen ihrer verfassungsmäßigen Verpflichtung zur Information der Öffentlichkeit herausgegeben.

Sie darf weder von Parteien noch von deren Kandidaten oder Helfern zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen. Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist auch die Weitergabe an Dritte zur Verwendung bei der Wahlwerbung.

*Täglich für  
ein gutes Leben.*

www.lfulg.sachsen.de