

Departement für Nutztiere
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Vorsteher: Prof. Dr. med. vet. Christian Gerspach

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Prof. Dr. Dr. h. c. med. vet. Ueli Braun

**ACTH-Test und Haarcortisoluntersuchungen bei 20 gesunden und 41 Kühen
mit verschiedenen Erkrankungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Andrea Silvana Dätwyler

Tierärztin

von Unterentfelden, AG

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Dr. h. c. med. vet. Ueli Braun, Referent

Prof. Dr. med. vet. Thomas Lutz, Korreferent

2021

Departement für Nutztiere
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Vorsteher: Prof. Dr. med. vet. Christian Gerspach

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Prof. Dr. Dr. h. c. med. vet. Ueli Braun

**ACTH-Test und Haarcortisoluntersuchungen bei 20 gesunden und 41 Kühen
mit verschiedenen Erkrankungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Andrea Silvana Dätwyler

Tierärztin

von Unterentfelden, AG

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Dr. h. c. med. vet. Ueli Braun, Referent

Prof. Dr. med. vet. Thomas Lutz, Korreferent

2021

Meiner lieben Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1. ZUSAMMENFASSUNG	6
2. SUMMARY	7
3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	8
4. LITERATURÜBERSICHT	9
4.1. Regulation des Cortisols	9
4.2. ACTH-Stimulationstest beim Menschen	10
4.3. ACTH-Stimulationstest beim Hund	11
4.4. Hyper- und Hypoadrenocortizismus und deren Diagnostik beim Hund	13
4.5. ACTH-Stimulationstest beim Rind	14
4.6. Haarcortisolkonzentrationen	17
4.7. Gewichte der Nebennieren	18
4.8. Anatomie, Histologie und Funktion der Nebennieren	19
4.9. Cortisolkonzentration in den Nebennieren	19
5. MATERIAL UND METHODIK	20
5.1. Untersuchte Tiergruppen	20
5.1.1. Gruppe 1: 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs	20
5.1.2. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe	20
5.1.3. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne und mit Glukokortikoidvorbehandlung	21
5.2. Haarproben	21
5.2.1. Entnahme, Verarbeitung und Lagerung	21
5.2.2. Haarcortisolbestimmung	21
5.3. ACTH-Stimulationstest	22
5.3.1. Vorbereitung der Kühe	22
5.3.2. Durchführung des ACTH-Stimulationstests	22
5.3.3. Cortisolbestimmung im Blutserum	22
5.4. Nebennieren	23
5.4.1. Entnahme der Nebennieren	23
5.4.2. Präparation der Nebennieren	23

5.4.3. Cortisolextraktion und Cortisolbestimmung in den linken Nebennierenrinden	23
5.4.4. Anfertigen der histologischen Präparate der rechten Nebennieren	23
5.5. Statistik	24
5.6. Tierversuchsbewilligung	25
5.7. Zusammenarbeit mit anderen Institutionen	25
6. ERGEBNISSE	26
6.1. Haarcortisolkonzentrationen	26
6.1.1. Gruppe 1: 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs	26
6.1.2. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe	26
6.1.3. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung	26
6.1.4. Vergleich der Gruppen	26
6.2. ACTH-Stimulationstest	27
6.2.1. Gruppe 1: Gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs	27
6.2.2. Gruppe 2: Gesunde Schlachtkühe	27
6.2.3. Gruppe 3: Kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung	27
6.2.4. Vergleich der Gruppen	30
6.3. Untersuchte Nebennieren	30
6.3.1. Nebennierengewichte	30
6.3.1.1. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe	30
6.3.1.2. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung	30
6.3.1.3. Vergleich der Gruppen	31
6.4. Gewicht und Cortisolgehalt der linken Nebennieren	31
6.4.1. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe	31
6.4.2. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung	31
6.4.3. Vergleich der Gruppen 2, 3A und 3B	32
6.5. Morphometrische und histologische Untersuchungen der rechten Nebennieren	33
6.5.1. Morphometrische Untersuchungen	33
6.5.2. Histologische Untersuchung der Nebennieren	35
6.6. Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern	36

6.6.1. Nebennierenrinden- und Haarcortisolkonzentrationen	36
6.6.2. Basale Blutcortisol- und Haarcortisolkonzentrationen	36
6.6.3. ACTH-stimulierte Cortisol- und Haarcortisolkonzentrationen	36
6.6.4. Nebennierengewichte und ACTH-stimulierte Blut- bzw. Haarcortisolkonzentrationen	36
6.6.5. Beziehung zwischen der Nebennierenrindencortisolkonzentration und der ACTH-stimulierten Cortisolkonzentration	38
6.7. Glutaraldehydtest	38
7. DISKUSSION	39
7.1. Haarcortisolkonzentrationen	39
7.2. Haarcortisolkonzentrationen bei gesunden Milchkühen, bei Schlachtkühen und bei kranken Kühen	40
7.3. ACTH-Stimulationstest	41
7.3.1. Basalcortisolkonzentrationen	41
7.3.2. ACTH-stimulierte Cortisolkonzentrationen im Blut	41
7.3.3. ACTH-Antwort bei gesunden und kranken Kühen	42
7.4. Nebennierengewichte bei gesunden und kranken Kühen	43
7.5. Cortisolkonzentration der linken Nebennierenrinde	44
7.6. Morphometrie und Histologie der Nebennieren	44
7.6.1. Morphometrische Daten	44
7.6.2. Histologie der Nebennieren	45
7.7. Corticomedulläres Verhältnis	45
7.8. Schlussfolgerungen	45
8. LITERATURVERZEICHNIS	46
9. ANHANG	55
10. DANKSAGUNG	
11. LEBENSLAUF	

1. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen sowie die basalen und die ACTH-stimulierten Serumcortisolkonzentrationen (SCK) von gesunden und kranken Kühen unterscheiden. In der Gruppe 1 wurden 10 gesunde Milchkühe intravenös mit 0.125 µg ACTH/kg KGW behandelt. Vor und 30 Minuten nach der ACTH-Injektion wurden Blutproben für die Bestimmung der basalen (Median = 0.6 µg/dl) und der ACTH-stimulierten (Median = 6.9 µg/dl) Cortisolkonzentrationen entnommen. In der Gruppe 2 (10 gesunde Schlachtkühe) betragen die Medianwerte bei gleichem Behandlungsregime 0.3 resp. 5.7 µg/dl Serum. Für die Gruppe 3 standen 41 Kühe mit verschiedenen Krankheiten für den ACTH-Test zur Verfügung, die ohne (Gruppe 3A, n=31) bzw. mit Glukokortikoiden (Gruppe 3B, n=10) vorbehandelt waren. Die Medianwerte betragen für die Gruppe 3A 1.4 resp. 7.4 und für die Gruppe 3B 0.8 resp. 5.9 µg/dl. Die basalen und ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen der Gruppe 2 waren, wie angenommen wurde, signifikant tiefer als die der Gruppe 3A. Während sich die absoluten Zunahmen der ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen der verschiedenen Gruppen, entgegen den Erwartungen, nicht signifikant unterschieden, war die relative Zunahme bei der Gruppe 2 mit 1733 % gegenüber der Gruppe 3A mit 493 % signifikant grösser. Die medianen Haarcortisolkonzentrationen der Gruppen 1, 2, 3A und 3B unterschieden sich wider die Vermutung mit 1.1, 1.1, 1.0 und 0.9 pg/mg nicht signifikant.

2. SUMMARY

This study compared hair cortisol concentrations, baseline serum cortisol concentrations and serum cortisol concentrations after ACTH stimulation of healthy and ill cows. Group 1 included ten healthy dairy cows that received 0.125 µg ACTH/kg body weight intravenously. Serum cortisol concentrations were measured in blood samples collected before (median = 0.6 µg/dl) and 30 minutes after ACTH administration (median = 6.9 µg/dl). Group 2 included ten healthy slaughter cows that underwent the same treatment protocol and had respective serum cortisol concentrations of 0.3 and 5.7 µg/dl. Group 3 comprised 41 cows with various illnesses that underwent baseline serum cortisol measurement and ACTH stimulation without (group 3A, n=31) and with pretreatment with a glucocorticoid (group 3B, n=10). The median serum cortisol concentrations were 1.4 and 7.4 µg/dl in group 3A and 0.8 and 5.9 µg/dl in group 3B. Baseline and ACTH-stimulated cortisol concentrations were significantly lower in group 2 than in group 3A. The absolute increases above baseline concentrations did not differ significantly among groups but the relative increase in group 2 (1,733%) was significantly greater than in group 3A (493%). The median hair cortisol concentrations of groups 1 (1.1 pg/mg), 2 (1.1 pg/mg), 3A (1.0 pg/mg) and 3B (0.9 pg/mg) did not differ significantly.

3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die Beachtung von Tierwohl und Tiergesundheit sind von immer grösserer Bedeutung. Es erscheint deshalb wichtig, sie zu objektivieren. Ein Parameter, der sich evtl. dafür eignet, ist Cortisol. Cortisol wird bei Stress vermehrt von den Nebennieren ausgeschüttet. Stress kann sehr viele Ursachen haben. Er kann exogen (z. B. Hitze, Transport) oder endogen (z. B. Infekte, u. a.) bedingt sein (FRANSEN 1987; WEST, 2003; HODGSON et al., 2005; ALAM et al., 2018). Da die Cortisolsekretion einem zirkadianen Rhythmus unterworfen ist, ist mit einer einmaligen Cortisolbestimmung im Blut keine Aussage über den chronischen Stresszustand eines Tieres möglich (MÖSTL und PALME, 2002; PURNELL et al., 2004; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; FLESERIU et al., 2016). Auch eine Cortisolbestimmung im Speichel wird aufgrund der starken Schwankungen als ungeeignet dafür angesehen (STALDER und KIRSCHBAUM, 2012). Im Gegensatz dazu soll die Cortisolkonzentration im Haar eine länger andauernde Stresssituation widerspiegeln (COMIN et al., 2012) und nützlich sein, um chronischen Stress nachzuweisen (DAVENPORT et al., 2006). Zusätzlich soll ein solcher Zustand zu einer Vergrößerung der Nebennieren sowie zu einer Hyperreaktivität der Nebennierenrinde führen und damit nach ACTH-Injektion eine höhere Cortisolausschüttung bewirken als bei Tieren ohne chronischen Stress (MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007; VAN REENEN et al., 2013; CLAVADETSCHER, 2016). Ein weiterer Vorteil der Cortisolantwort der Nebennieren auf eine ACTH-Injektion soll darin bestehen, dass diese unabhängig vom zirkadianen Rhythmus zu sein scheint (BHANSALI et al., 2001).

In der vorliegenden Untersuchung sollte untersucht werden, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen, die basalen und die ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen, die absoluten und relativen Cortisolkonzentrationsanstiege nach einer ACTH-Applikation, die Cortisolkonzentrationen der Nebennierenrinden sowie die morphometrischen und histologischen Befunde der Nebennieren von kranken und gesunden Kühen unterscheiden und ob die Ergebnisse für die objektive Beurteilung von krankheitsbedingtem Stress verwendet werden können.

4. LITERATURÜBERSICHT

4.1. Regulation des Cortisols

Stress verursacht im Hypothalamus eine Ausschüttung des Corticotropin-Releasing Hormons (CRH) (ITO et al., 2005). Das CRH bewirkt im Hypophysenvorderlappen die Sekretion des adrenocorticotropen Hormons (ACTH), welches innert Minuten die Zellen der Zona fasciculata der Nebennierenrinde via eines ACTH-Rezeptors zur Synthese und Sekretion von Cortisol stimuliert (TERIO et al., 2004; ITO et al., 2005; MEINECKE, 2010; GILOR und GRAVES, 2011).

Die Cortisolkonzentration wird stark beeinflusst vom zirkadianen Rhythmus (MÖSTL und PALME, 2002; GILOR und GRAVES, 2011; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011) und der Gewöhnung an eine länger andauernde Stresssituation (SMITH und DOBSON, 2002; DAVENPORT et al., 2006). Weitere Einflüsse bei Rindern stellen Milchleistung, Management, Handling, Fixation, Temperament, Zuchtlinie, Epigenetik, Umwelttemperatur, Meereshöhe, Diäten, Futteraufnahme, Ortswechsel, Transport, Isolation und Laktationsstadium dar (HOFFMANN et al., 1973; HERD, 1989; BRUCKMAIER et al., 1993; HASEGAWA et al., 1997; RUSHEN et al., 1999, 2001; SMITH und DOBSON, 2002; DAVENPORT et al., 2006; MEANEY et al., 2007; CURLEY et al., 2008; BARTL et al., 2009; PETHERICK et al., 2009; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; PERIC et al., 2013; FIEGUTH, 2014).

Nach der Einwirkung eines akuten Stressors steigt die Cortisolkonzentration im Blut an (HERD, 1989; SMITH und DOBSON, 2002) und fällt innerhalb von ca. 40 Minuten wieder auf den Ausgangswert zurück (HERD, 1989). Auch wenn der Stress andauert, kann die Cortisolkonzentration im Blut trotzdem wieder sinken (SMITH und DOBSON, 2002). Eine chronische Stresssituation kann jedoch auch eine dauerhaft erhöhte Cortisolkonzentration im Blut verursachen (TERIO et al., 2004). Die Gewöhnung an eine chronische Stresssituation führt demzufolge nicht zur Erschöpfung der Zellen der Nebennierenrinde. Diese können auf einen andersartigen, neuen, akuten Stressor immer noch mit einer Cortisolausschüttung reagieren (SMITH und DOBSON, 2002; BERTONI et al., 2005). Möglicherweise bekommt die Nebennierenrinde sogar eine höhere Sensitivität auf neue Stressfaktoren, so dass sie mit einer Hyperreaktivität reagiert (MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007; VAN REENEN et al., 2013). Diese Hyperreaktivität kann zu einer stärkeren Cortisolantwort der Nebenniere auf einen Stimulus führen (VAN REENEN et al., 2013). Zudem kann es zu einer Störung des negativen Feedbackmechanismus im Glukokortikoidsystem und der Hypothalamus-Hypophysen-Achse (HPA, hypothalamic pituitary

axis) führen (MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007). Möglicherweise tritt diese Störung bei ängstlichen und sehr temperamentvollen Tieren auf (CURLEY et al., 2008). Jedoch wurden auch schon die Entwicklung einer Hyporeaktivität bzw. keinerlei Veränderungen der HPA beschrieben (BERTONI et al., 2005).

Chronischer Stress kann auch im zirkadianen Rhythmus Veränderungen auslösen (MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007).

Das Gewicht und das Alter haben nach HERD (1989) keinen Einfluss auf die Blutcortisolkonzentration.

Bei Kühen steigt die Cortisolkonzentration im Blut 1 - 2 Tage ante partum an und sinkt 15 Stunden danach wieder ab (HOFFMANN et al., 1973).

Weitere Faktoren, welche die HPA beeinflussen können, sind pränataler sowie früher postnataler Stress (MACCARI et al., 1995; MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007). Diese Stressarten können Veränderungen im Hirn und somit auch im Verhalten auslösen, welche lebenslang bestehen bleiben (MACCARI und MORLEY-FLETCHER, 2007). Es kann zu einer verlängerten Dauer der Cortisolproduktion bei Adulten führen. Möglicherweise hängt dies mit der Schwächung des negativen Feedbacks des Cortisols auf das Zentralnervensystem zusammen (MACCARI et al., 1995; VAN WAES et al., 2006).

4.2. ACTH-Stimulationstest beim Menschen

Der ACTH-Stimulationstest wird beim Menschen für den Nachweis einer adäquaten Stressfunktionsreserve der Nebennieren verwendet (AUERNHAMMER und REINCKE, 2018). Vorgängig sollen eine ausführliche Anamnese und klinische Untersuchung für eine erste Vorselektionierung der Patienten erfolgen (DORIN et al., 2014). Für den Test werden supraphysiologische ACTH-Konzentrationen verwendet (AUERNHAMMER und REINCKE, 2018). Es kann dabei entweder mit einer niedrigen bzw. hohen ACTH-Dosis (1 bzw. 250 µg) gearbeitet werden, wobei heute standardmässig die hohe Dosierung verwendet wird (BANCOS et al., 2015; DORIN et al., 2014; BORNSTEIN et al., 2016). Die Ergebnisse zwischen der hohen und der niedrigen Dosierung sind vergleichbar (DORIN et al., 2014; OSPINA et al., 2015; BORNSTEIN et al., 2016). Von der Uhrzeit her spielt es keine Rolle, wann mit dem Test begonnen wird (BHANSALI et al., 2001).

Initial wird dem Patienten Blut für die Bestimmung der Basiscortisolkonzentration entnommen. Dann werden ihm 250 µg ACTH intravenös verabreicht. 30 und 60 Minuten später wird nochmals Blut für die Cortisolkonzentrationbestimmung gewonnen (BANCOS et al., 2015; BORNSTEIN et al., 2016). Bei einem geringen oder fehlenden Anstieg der Cortisolkonzentration muss

von einer Nebenniereninsuffizienz (NNI) ausgegangen werden (BORNSTEIN et al., 2016). Bei der Interpretation müssen die laborspezifischen Referenzwerte verwendet werden (BANCOS et al., 2015; BORNSTEIN et al., 2016). Der Basiscortisolkonzentration allein kommt aufgrund des zirkadianen Rhythmus keine diagnostisch verwertbare Aussagekraft zu (PURNELL et al., 2004; FLESERIU et al., 2016). Dies gilt auch bei Hunden (PETERSON et al., 1982; GARNIER et al., 1990; LENNON et al., 2007; PETERSON, 2007).

Bei der NNI wird zwischen der primären und sekundären Form unterschieden (AUERNHAMMER und REINCKE, 2018). Bei der primären NNI liegt das Problem bei den Nebennieren, bei der sekundären auf der Ebene der Hypophyse und/oder des Hypothalamus (AUERNHAMMER und REINCKE, 2018). Die primäre NNI kann mit dem ACTH-Stimulationstest sehr gut nachgewiesen werden (CHO et al., 2014; DORIN et al., 2014). Bei einer sekundären NNI wird der Insulintoleranztest als Goldstandard angegeben, da der ACTH-Stimulationstest auf Grund der physiologisch funktionierenden Nebennierenrinde in der ersten Zeit der sekundären NNI noch akkurat auf das ACTH reagiert und es so zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann (BANCOS et al., 2015; OSPINA et al., 2015). Bei einem positiven Ergebnis des ACTH-Stimulationstests (keine oder reduzierte Cortisolantwort), handelt es sich um eine NNI (OSPINA et al., 2015), welche mittels einer Messung der endogenen ACTH-Konzentration morgens um 8 Uhr in eine primäre (tiefe ACTH-Konzentration) oder sekundäre NNI (hohe ACTH-Konzentration) unterteilt werden soll (DORIN et al., 2014). Bei einem negativen Ergebnis (Cortisolantwort auf ACTH in der Norm) muss daran gedacht werden, dass speziell bei akuten und bei sekundären (milden) NNI falsch negative Ergebnisse auftreten können (AGHA et al., 2006; DORIN et al., 2014; LINDHOLM, 2015; OSPINA et al., 2015). Ein negatives Ergebnis schliesst also eine NNI nicht aus. Bei anamnestischem oder klinischem Verdacht sollten weitere diagnostische Schritte wie der Desmopressin-Test (Analogon zu Arginin-Vasopressin mit antidiuretischer Wirkung), der Dexamethason-CRH-Test oder die Messung des Cortisols im Speichel um Mitternacht eingeleitet werden (DORIN et al., 2014; OSPINA et al., 2015; FINDLING und RAFF, 2017).

4.3. ACTH-Stimulationstest beim Hund

Mit Hilfe des ACTH-Stimulationstests wird die Kapazität der Nebennieren in Bezug auf die Cortisolausschüttung überprüft (KOOISTRA und GALAC, 2010; VAN LANEN und SANDE, 2014). Dabei wird ACTH in einer supraphysiologischen Dosis verwendet, um die NNR maximal zur Sekretion von Cortisol zu stimulieren (GILOR und GRAVES, 2011). Bei der Interpretation des ACTH-Stimulationstests bei Hunden müssen seine Sensitivität zur Erkennung eines an Morbus Cushing erkrankten Tieres von 80.2 % (BEHREND et al., 2002) und seine Spezifität

(gesunde Hunde von Hunden mit Morbus Cushing zu unterscheiden) von 86 % (KAPLAN et al., 1995) beachtet werden. Der Low-Dose-Dexamethasontest weist eine höhere Sensitivität für die Erkennung von Cushingpatienten auf (GILOR und GRAVES, 2011; FOWLER et al., 2017). Bei einem negativen Ergebnis des ACTH-Stimulationstests kann also eine Erkrankung der Nebennieren nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden (PETERSON et al., 1982). Die Tageszeit, zu welcher der Test durchgeführt wird, beeinflusst die Ergebnisse nicht (FELDMANN und NELSON, 1996). Es existieren verschiedene ACTH-Präparate auf dem Markt, welche sich in Studien an Hunden bezüglich der Resultate nicht unterschieden hatten (FELDMANN und NELSON, 1996; WATSON et al., 1998; COHEN und FELDMANN, 2012). Vor der ACTH-Gabe wird beim Hund eine Blutprobe für die Bestimmung der Basalcortisolkonzentration entnommen (FELDMANN und NELSON, 1996; VAN LANEN und SANDE, 2014). Danach wird ACTH intravenös oder intramuskulär verabreicht und nach einer Stunde wird noch einmal Blut für die Cortisolkonzentrationbestimmung gewonnen (FELDMANN und NELSON, 1996; LATHAN et al., 2008; COHEN und FELDMANN, 2012; VAN LANEN und SANDE, 2014). Die empfohlene Dosis reicht von 5 bis 250 µg ACTH, wobei sich die Ergebnisse bei den unterschiedlichen Dosierungen nicht unterscheiden sollen (WATSON et al., 1998; KERL et al., 1999; LATHAN et al., 2008). In Bezug auf die intravenöse bzw. die intramuskuläre Applikation unterscheiden sich die Ergebnisse nicht (COHEN und FELDMANN, 2012).

Die Cortisolkonzentration in der Probe vor der ACTH-Verabreichung wird als Basalwert oder basale Cortisolkonzentration bezeichnet, diejenige nach ACTH-Stimulation hat keine spezifische Bezeichnung (GARNIER et al., 1990). Beide Werte können unter-, inner- oder oberhalb der laborspezifischen Referenzwerte liegen (LENNON et al., 2007; VAN LANEN und SANDE, 2014). Bei der Interpretation muss darauf geachtet werden, dass cortisolhaltige Medikamente zu falsch hohen Blutcortisolkonzentrationen führen können (FELDMANN und NELSON, 1996; KINTZER und PETERSON, 2006; GILOR und GRAVES, 2011). Prednisolon und dessen Derivate führen bei der Cortisolbestimmung mit dem Immulite 2000 zu Kreuzreaktionen und deshalb zu höheren Werten, während dies bei Dexamethason nicht der Fall ist (GILOR und GRAVES, 2011).

Kommt es nach dem ACTH zu einem Anstieg des Cortisols, bedeutet dies, dass die Nebennieren zu reagieren vermögen. Zeigen sich vor und nach der ACTH-Verabreichung subnormale Werte oder kommt es zu keinem Anstieg, muss von einer Nebennierensuppression (iatrogener Cushing, Anamnese für Diagnose wichtig) oder einem Hypoadrenokortizismus (Morbus Addison) ausgegangen werden (GILOR und GRAVES, 2011; VAN LANEN und SANDE, 2014).

Wenn die Cortisolkonzentration nach ACTH über den Referenzbereich ansteigt, kann dies für einen Nebennierentumor sprechen (GILOR und GRAVES, 2011).

Bei nicht eindeutigen oder nicht zum klinischen Bild passenden Testergebnissen müssen weitere diagnostische Abklärungen wie eine hämatologische und blutchemische Untersuchung, eine Bestimmung des Cortisol-/Kreatinin-Quotienten im Urin und eine sonographische Untersuchung der Nebennieren durchgeführt werden (GILOR und GRAVES, 2011).

4.4. Hyper- und Hypoadrenocortizismus und deren Diagnostik beim Hund

Der Hyperadrenokortizismus (HA) wird auch als Cushing-Syndrom bezeichnet. Die Erkrankung ist durch eine abnormal hohe Cortisolproduktion durch die Nebennieren gekennzeichnet (KINTZER und PETERSON, 2006). Ursachen können ACTH sezernierende neoplastische Veränderungen in der Hypophyse sein (GILOR und GRAVES, 2011), was bei 85 bis 90 % der Fälle zutrifft (KINTZER und PETERSON, 2006). Laut KINTZER und PETERSON (2006) sind es bei 10 bis 15 % Tumoren in den Nebennieren, welche unkontrolliert Cortisol synthetisieren und sekretieren (GILOR und GRAVES, 2011). Sehr seltene Ursachen stellen die ektopische Produktion von ACTH durch neuroendokrine Tumoren (GALAC et al., 2005) oder ein futterbedingter HA (GALAC et al., 2008) dar. Als weiterer Grund für HA wird der iatrogene Cushing genannt, bei welchem das Cortisol durch Verabreichen von kortisonhaltigen Medikamenten in den Körper gelangt (GILOR und GRAVES, 2011).

Die ersten und wichtigsten Schritte zur Diagnose des Cushing-Syndroms bilden eine vollständige Anamnese und eine genaue klinische Untersuchung. Bei Verdacht auf HA sollen ein Hämatogramm, eine Blutchemie, eine Urinanalyse und eine bakteriologische Untersuchung des Harns durchgeführt werden, um diesen zu erhärten oder zu entkräften (GILOR und GRAVES, 2011). Erst anschliessend soll der Low-Dose-Dexamethason-Suppressionstest oder der ACTH-Stimulationstest zur Anwendung gelangen. Durch dieses Vorgehen kann das Risiko von falsch positiven Ergebnissen stark gesenkt werden (PETERSON, 2007; KOOISTRA und GALAC, 2010). Beim iatrogenen Cushing erweist sich der ACTH-Stimulationstest als Test der Wahl für dessen Diagnose (PETERSON, 2007; KOOISTRA und GALAC, 2010).

Der Hypoadrenokortizismus, auch als Morbus Addison bekannt, ist eine Erkrankung, die auf Grund einer Unterfunktion der Nebennieren entsteht. Sie entsteht primär durch Atrophie oder Zerstörung der gesamten Nebenniere. Der Morbus Addison kann idiopathisch oder durch Mitotan bedingt sein (KINTZER und PETERSON, 2006). Mitotan ist ein Zytostatikum, welches die Zellen in der Nebennierenrinde selektiv hemmt (CLINIPHARM, 2020). Weiter können granulomatöse oder entzündliche Veränderungen sowie Blutungen zu einem Morbus Addison führen.

Der sekundäre Morbus Addison entsteht durch eine ungenügende endogene ACTH-Sekretion. Die Ursachen dafür können eine längere und hoch dosierte Gabe von Glukokortikoiden, eine Läsion in der Hypophysen-Nebennierenachse und idiopathisch sein (KINTZER und PETERSON, 2006). Zur Diagnose eines Morbus Addison wird als Mittel der Wahl der ACTH-Stimulationstest durchgeführt (FELDMANN und NELSON, 1996; KINTZER und PETERSON, 2006; LENNON et al., 2007; LATHAN et al., 2008; KOOISTRA und GALAC, 2010). Tendenziell kommt es bei einem primären Morbus Addison zu keinem Anstieg der Blutcortisolkonzentration, während dieser bei der sekundären Erkrankung im Vergleich zum gesunden Tier reduziert ist. Auf Grund dieser Testergebnisse ergibt sich jedoch nicht immer eine klare Differenzierung (FELDMANN und NELSON, 1996; KINTZER und PETERSON, 2006).

4.5. ACTH-Stimulationstest beim Rind

Der ACTH-Stimulationstest wurde bei Kühen durchgeführt, um deren individuelle Stressantwort der HPA auf das verabreichte ACTH messen zu können (FIEGUTH, 2014).

Vergleich von unterschiedlichen ACTH-Dosen

Der ACTH-Test wurde von VERKERK et al. (1994) bei Milchkühen mit unterschiedlichen ACTH-Dosen durchgeführt. Die Dosen reichten von 0.0125 mg bis 0.4000 mg ACTH pro Tier (VERKERK et al., 1994). Auch BERTONI et al. (2005) setzten den ACTH-Stimulationstest bei laktierenden Kühen mit hohen (1.000 mg) und niedrigen (0.020, 0.040 und 0.080 mg) Dosen ein. In den verschiedenen Studien führten bei Kälbern, Milch- und Mastkühen alle ACTH-Applikationen zu einer signifikanten Erhöhung der Blutcortisolkonzentration (VENKATASESHU und ESTERGREEN, 1970; GWAZDAUSKAS et al., 1972; DUNLAP et al., 1990; VERKERK et al., 1994; NEGRÃO et al., 2004; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; JURKOVICH et al., 2020).

Die maximalen Cortisolkonzentrationen waren im Blut bei allen Dosen sehr ähnlich und unabhängig von der basalen Konzentration (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005). Die Dauer nach der ACTH-Applikation bis zum Erreichen der höchsten Cortisolkonzentration im Blut war bei den niedrigeren ACTH-Dosen (0.0125 bzw. 0.025 mg pro Kuh) kürzer als bei den höheren (0.05, 0.1, 0.2 bzw. 0.4 mg ACTH pro Kuh) (VERKERK et al., 1994). Nach BERTONI et al. (2005) wurde die maximale Cortisolkonzentration bei höheren ACTH-Dosen schneller als bei niedrigeren erreicht. In anderen Studien wurden die maximalen Cortisolkonzentrationen bei Milchkühen nach 30 Minuten (GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011) und bei Mastkühen nach 30 Minuten bis 2 Stunden (DUNLAP et al., 1990) gemessen.

Bezüglich der Dauer der Erhöhung bestanden Unterschiede. Bei höheren Dosen dauerte die Cortisolkonzentrationserhöhung länger an als bei niedrigeren (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005).

Das Absinken der Cortisolkonzentrationen nach einer ACTH-Applikation war individuell unterschiedlich schnell (FIEGUTH, 2014) und abhängig von der applizierten ACTH-Dosis (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005). Je höher die applizierte ACTH-Dosis war, desto länger dauerte es, bis die basale Cortisolkonzentration wieder erreicht wurde (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005).

Die Menge des von den Nebennieren ausgeschütteten Cortisols nach der ACTH-Applikation reflektierte dessen Dosis (VERKERK et al., 1994).

Nach ACTH wurden keinerlei klinische Stresssymptome festgestellt und das Komfortverhalten (Niederlegen, Wiederkaugen) war normal (VAN REENEN et al., 2013).

ACTH-Test in Abhängigkeit von der Zeit seit der Geburt und vom Geburtsverlauf

Die basale Cortisolkonzentration verhielt sich bei Kühen recht konstant (FIEGUTH, 2014) und variierte auch in der Phase nach der Geburt nicht (DUNLAP et al., 1990). 1 - 2 Tage ante partum hingegen steigt die Cortisolkonzentration im Blut der Kühe an und sinkt 15 Stunden danach wieder ab (HOFFMANN et al., 1973).

Die Antwort auf das applizierte ACTH variierte je nach Dauer post partum und dem Geburtsverlauf (DUNLAP et al., 1990; NAKAO et al., 1990). Bis ca. 2 Wochen nach der Geburt war die Antwort auf das ACTH vermindert (DUNLAP et al., 1990). Wurde bei Kühen in Geburt sehr starke Zughilfe geleistet und war dies mit nachfolgendem Kaiserschnitt bzw. Fetotomie verbunden, so waren die basalen und die ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen höher als bei Kühen nach einer normalen Geburt. An den Tagen 4 und 8 post partum unterschieden sich die basalen und stimulierten Werte nicht mehr von den oben erwähnten Kühen (mit normaler Geburt, Geburt mit starker Zughilfe und nachfolgendem Kaiserschnitt oder Fetotomie) (NAKAO et al., 1990).

Einfluss des Handlings vor dem ACTH-Test

Das Einsetzen eines Venenkatheters eine Stunde vor der Messung des Basalwerts beeinflusste die basale Cortisolkonzentration nicht (FIEGUTH, 2014).

Beim Vergleich der ACTH-Ergebnisse von sehr gut an das Handling gewöhnten Kühen (welche 24 h vor dem Experiment schon einen Venenverweilkatheter gelegt bekamen für minimale Ma-

nipulationen während des Tests) mit solchen, bei denen die ACTH-Applikation und die Blutprobenengewinnung aus der Schwanzvene ohne vorherige Angewöhnung an die Manipulationen erfolgte, unterschieden sich die Resultate nicht signifikant. Die Autoren schlossen daraus, dass der ACTH-Stimulationstest beim Rind auch unter nicht standardisierten Bedingungen durchgeführt werden kann (VERKERK et al., 1994).

Einfluss des Temperaments auf den ACTH-Test

CURLEY et al. (2008) verglichen temperamentvolle und ruhige Kühe in Bezug auf die basalen Cortisolkonzentrationen und die ACTH-Antworten. Ruhigere Tiere wiesen niedrigere Basalcortisolkonzentrationen auf als temperamentvolle, welche möglicherweise konstant mehr gestresst waren (CURLEY et al., 2008; VAN REENEN et al., 2013). Wurde den Kühen der beiden Gruppen dieselbe ACTH-Dosis appliziert, so stieg die Cortisolkonzentration bei den ruhigeren Tieren im Vergleich zur basalen Cortisolkonzentration tendenziell mehr an. Der relative Cortisolkonzentrationsanstieg betrug bei den temperamentvollen Kühen das 4- und bei den ruhigeren das 15-Fache, d. h., dass die ACTH-Antwort bei den temperamentvollen Kühen im Vergleich zu den ruhigen gedämpft war. Die Cortisolkonzentrationen sanken nach dem Maximum unter die Basalwerte, wobei die Werte der ruhigen Kühe wiederum niedriger als diejenigen der temperamentvollen waren. Bei den temperamentvollen Kühen wurde der ursprüngliche Basalwert signifikant schneller als bei den ruhigen erreicht. Die Grundaktivität war damit bei den ruhigen Tieren länger erhöht als bei den temperamentvollen (CURLEY et al., 2008).

Sensitivität der Nebennierenrinde

Die Sensitivität der Nebennierenrinde kann als Menge des ausgeschütteten Cortisols nach einer ACTH-Gabe angegeben werden. In der Studie von FIEGUTH (2014) wurde der ACTH-Test bei nicht tragenden Milchkühen durchgeführt und die Ergebnisse wurden mit Cortisolmessungen derselben Tiere unter Stress auf dem Klautentisch verglichen. Dabei wurde festgestellt, dass die Cortisolantworten bei einer bestimmten Kuh ähnlich waren, sich jedoch individuell sehr unterschieden. Zudem kam es bei einer höheren Sensitivität der Nebennierenrinde zu einem langsameren Abfall der Blutcortisolkonzentrationen.

Vergleich der ACTH-Antwort bei laktierenden Kühen und Aufzuchtrindern

VAN REENEN et al. (2013) fanden Unterschiede in der Cortisolantwort nach ACTH-Applikation bei Kühen in Laktation und bei Aufzuchtrindern. Die Kühe wiesen eine höhere basale Cortisolkonzentration sowie eine grössere und länger andauernde Cortisolausschüttung nach ACTH als die Aufzuchtrinder auf (VAN REENEN et al., 2013).

Einfluss der Trächtigkeit auf den ACTH-Test

Zwischen trächtigen und nicht trächtigen Kühen bestand in Bezug auf die Cortisolantwort nach ACTH kein Unterschied (HASEGAWA et al., 1997). Weiter konnten VERKERK et al. (1994) auch keine Unterschiede zwischen trächtigen (im ersten Trimester), laktierenden und nicht trächtigen, nicht laktierenden Kühen feststellen. Die Antwort auf ACTH unterschied sich in der Studie von HASEGAWA et al. (1997) bei trächtigen und nicht trächtigen Kühen ebenfalls nicht signifikant.

Einflussfaktoren wie Rasse, Körpergewicht und Ranghöhe auf den ACTH-Test

Die Rasse und das Körpergewicht beeinflussten die Antwort auf ACTH nicht (VERKERK et al., 1994). Auch die Ranghöhe der Kühe war nicht mit einem Einfluss auf die ACTH-Antwort vergesellschaftet (HASEGAWA et al., 1997).

4.6. Haarcortisolkonzentrationen

Die Untersuchungen über die Haarcortisolkonzentrationen beim Rind wurden in der Dissertation von WIEST (2018) sowie den Masterarbeiten von MICHEL (2016) und CLAVADETSCHER (2016) abgehandelt und sollen an dieser Stelle nicht erneut beschrieben werden. Seit den genannten Arbeiten sind diverse Untersuchungen dazu gekommen. So wurden alte Feedlot-Stiere (durchschnittlich 9 Jahre alt) mit weissen Haaren, alte Stiere mit schwarzen Haaren und Jungstiere (durchschnittlich 2.5 Jahre alt) mit schwarzen Haaren verglichen. Die alten Stiere beider Haarfarben wiesen signifikant höhere Haarcortisolkonzentrationen als die jungen auf (BAIER et al., 2019). Dagegen wurden in Haaren von neugeborenen Kälbern signifikant höhere Haarcortisolkonzentrationen gemessen als bei Adulten und bei 6 und 18 Monate alten Rindern (HEIMBÜRGE et al., 2020). NEJAD et al. (2019a) fanden signifikant höhere Cortisolkonzentrationen in den Haaren von Milchkühen als in denen von 10 bis 12 Monate alten Rindern. Auch unter Hitzestress waren die Haarcortisolkonzentrationen bei den Milchkühen in Laktation signifikant höher als bei 10 bis 12 Monate alten Rindern (NEJAD et al., 2019b).

In der Untersuchung von BAIER et al. (2019) wiesen die weissen Haare signifikant höhere Cortisolwerte auf als die schwarzen. Im Gegensatz dazu fanden die gleichen Autoren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Haarfarben schwarz und weiss. Auch gegenüber roten Haaren bestand kein signifikanter Unterschied (BAIER et al., 2020). Andere Autoren (HEIMBÜRGE et al., 2020) ermittelten in schwarzen Haaren höhere Cortisolkonzentrationen als in weissen.

Die Lokalisation der Haarentnahme ergab in der Studie von HEIMBÜRGE et al. (2020) signifikante Unterschiede zwischen den Haarcortisolkonzentrationen. Schwanzhaare wiesen signifikant höhere Cortisolkonzentrationen auf als Haare vom Rücken und der Schulter (HEIMBÜRGE et al., 2020). Im Gegensatz dazu fanden NEJAD et al. (2019a) bei Kühen und Rindern keine signifikanten Unterschiede zwischen unterschiedlichen Entnahmestellen.

In körpernahen Haaren waren die Cortisolkonzentrationen höher als in körperfernen (HEIMBÜRGE et al., 2020). Im Sommer (Juli) wiesen die Haare von Rindern eine geringere Cortisolkonzentration auf als im Winter (Januar) (HEIMBÜRGE et al., 2020). Die Haarcortisolkonzentrationen von männlichen und weiblichen neugeborenen Kälbern unterschieden sich nicht signifikant (HEIMBÜRGE et al., 2020).

Beim Vergleich der Haarcortisolkonzentrationen von Stieren ohne Leberabszesse mit solchen mit kleinen und grossen Leberabszessen wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden (BAIER et al., 2020).

Zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und äusseren Verletzungen, Laktationsstadium und Alter wurden positive, zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und der Dauer des Weidegangs sowie der Pansenfüllung negative Korrelationen ermittelt (SHARMA et al. 2019).

4.7. Gewichte der Nebennieren

Die linken Nebennieren waren bei Maststieren und -kühen meist schwerer als die rechten (HOWES et al., 1960). Auch die durchschnittlichen Gewichte der linken Nebennieren waren bei Kühen mit 21.1 g schwerer als die der rechten mit 18.8 g (BRAUN et al., 2017a). Zwischen den Nebennierengewichten von akut und chronisch kranken Kühen konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Ebenso fanden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den Nebennierengewichten und den Haarcortisolkonzentrationen (BRAUN et al., 2017a). Weitere Angaben finden sich in der Masterarbeit von CLAVADETSCHER (2016).

4.8. Anatomie, Histologie und Funktion der Nebennieren

Die anatomischen und histologischen Befunde der Nebennieren wurden in der Masterarbeit von STIRNIMANN (2017) zusammenfassend dargestellt. TERIO et al. (2004) vermessen die Nebennieren bei Geparden und stellten bei gefangenen Geparden ein signifikant grösseres cortico-medulläres Verhältnis als bei freilebenden fest (2.07 ± 0.18 vs. 1.92 ± 0.26).

4.9. Cortisolkonzentration in den Nebennieren

STIRNIMANN (2017) untersuchte die Cortisolkonzentrationen in den Nebennierenrinden von akut und chronisch kranken Kühen. Bei den akut kranken Kühen betrug der Medianwert 1.54 und bei den chronisch kranken Kühen 1.09 μg Cortisol/g Cortex. Die beiden Werte unterschieden sich nicht signifikant. Die bei den insgesamt 142 Kühen ermittelten Cortisolkonzentrationen lagen zwischen 0.02 bis 11.01 $\mu\text{g}/\text{g}$ Cortex.

5. MATERIAL UND METHODIK

5.1. Untersuchte Tiergruppen

Die Untersuchungen erfolgten zwischen dem 2. September 2016 und dem 21. März 2018 an insgesamt 61 Milchkühen verschiedener Rassen. Sie wurden durchgeführt, um die Wirkung von ACTH auf die Cortisolausschüttung von gesunden und kranken Kühen vergleichend zu beurteilen. Im Weiteren wurden die Haarcortisolkonzentrationen bestimmt. Die linken Nebennieren von 49 Kühen wurden für die Bestimmung der Nebennierenrinden-Cortisolkonzentrationen und die rechten für die morphometrischen und histologischen Untersuchungen verwendet.

Die Gruppe 1 umfasste 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs, die Gruppe 2 10 gesunde Schlachtkühe und die Gruppe 3 41 Kühe mit verschiedenen Krankheiten, die deswegen am Tierhospital Zürich untersucht und euthanasiert werden mussten. Die kranken Kühe waren in die beiden Gruppen 3A (n = 31, kranke, nicht mit einem synthetischen Glukokortikoid vorbehandelt) und 3B (n = 10, kranke, mit einem synthetischen Glukokortikoid vorbehandelt) eingeteilt. Alle Kühe wurden vor dem Versuch gewogen.

5.1.1. Gruppe 1: 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs

Die Gruppe 1 umfasste 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs, 8315 Lindau. Fünf davon gehörten der Rasse Holstein Friesian, 3 der Rasse Schweizer Braunvieh und 2 der Rasse Schweizer Fleckvieh an. Die Kühe waren 2.5 bis 6.0 Jahre alt (Median = 3.8 Jahre) und 72 bis 118 Tage trächtig (Median = 94 Tage). Alle Kühe waren in einem separaten Raum aufgestellt. Eine klinische Untersuchung, wie sie bei kranken, in die Nutztierklinik eingelieferten Kühen durchgeführt wird, hatte keine Besonderheiten ergeben. Ebenfalls war ein Glutaraldehydtest, der zur Erkennung von allfälligen chronischen Entzündungen und Infektionen durchgeführt worden war, unauffällig verlaufen (Doll et al. 1985).

5.1.2. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe

Die Gruppe 2 umfasste 10 gesunde Schlachtkühe im Alter von 1.5 bis 13.5 Jahren (Median = 9.3 Jahre). Bei 9 davon handelte es sich um Schweizer Braunviehkühe und bei einer um eine Schweizer Fleckviehkuh. Die von einem Viehhändler gekauften Schlachtkühe wurden im Anbindestall des Departements für Nutztiere, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, gehalten. Eine klinische, hämatologische und blutchemische Untersuchung sowie ein Glutaraldehydtest waren bei 6 Kühen unauffällig gewesen. Bei 4 Kühen waren der Glutaraldehydtest verkürzt (2.5, 3.0, 5.0, 7.0 Min.) und die Aktivitäten der Enzyme Sorbitdehydrogenase (SDH), γ -Glutamyltransferase (γ -GT) und/oder Glutamatdehydrogenase (GLDH) leichtgradig erhöht. Bei 2 Kühen war

zudem eine leichtgradige Leukozytose festgestellt worden. Die Kühe wurden zudem während 7 Tagen gesundheitlich überwacht und täglich klinisch untersucht.

5.1.3. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne und mit Glukokortikoidvorbehandlung

Bei den 41 kranken Kühen handelte es sich um Tiere, welche von verschiedenen praktizierenden Tierärztinnen und Tierärzten zur Untersuchung an die Klinik für Wiederkäuer eingeliefert worden waren und wegen Unheilbarkeit oder schlechter Prognose euthanasiert werden mussten. Für jede Kuh lag eine schriftliche Zustimmung des Besitzers zur Durchführung der in dieser Dissertation beschriebenen experimentellen Untersuchungen vor.

Zur Gruppe 3A gehörten 31 Kühe, die innerhalb der vorangehenden Woche nicht mit einem synthetischen Glukokortikoid vorbehandelt worden waren und zur Gruppe 3B 10 in dieser Zeit mit einem solchen Medikament behandelte Kühe (Anhang 1). Die Kühe gehörten den Rassen Schweizer Braunvieh (n = 16), Holstein Friesian (n = 11), Schweizer Fleckvieh (n = 9), Hereford (n = 2), Jersey (n = 2) und Dexter (n = 1) an und waren 2 bis 11 Jahre (Median = 5 Jahre) alt. Die Euthanasie erfolgte wegen Peritonitis (n = 19), Labmagenulzera (n = 14), Reticuloperitonitis traumatica (n = 5), Bronchopneumonie (n = 5), Klauenerkrankung (n = 3), Neoplasie (n = 3), Hoflund-Syndrom (n = 2), Leberabszess (n = 2), Leberverfettung (n = 2), Mastitis (n = 2), Muskelerkrankung (n = 2), eitrigem Knochensequester (n = 1), Enteritis (n = 1), ZNS-Erkrankung (n = 1), Beckenfraktur (n = 1), Endokarditis valvularis (n = 1), Pyothorax (n = 1), Otitis media (n = 1), Thrombophlebitis der Eutervene (n = 1) und Tarsitis (n = 1). Viele Kühe litten an mehr als einer Krankheit.

5.2. Haarproben

5.2.1. Entnahme, Verarbeitung und Lagerung

Bei allen Kühen wurde am Hals eine Haarprobe (ca. 3 - 4 g) für die Cortisolbestimmung entnommen. Für die Probenentnahme wurde eine Stelle mit möglichst stark pigmentierten Haaren gewählt. Die Haare wurden mit einer zuvor gereinigten Schermaschine (Aesculap® Favorita CL, Aesculap Suhl GmbH, D-98528 Suhl) direkt in einen stabilen Plastikbecher entnommen, 5 bis 7 Tage bei Raumtemperatur getrocknet, danach in Alufolie verpackt und bis zur Cortisolbestimmung bei Raumtemperatur aufbewahrt.

5.2.2. Haarcortisolbestimmung

Die Haare wurden nach Abschluss aller Probenentnahmen ins Zentrum für Forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin gebracht und dort untersucht. Die Bestimmung des Haarcortisols erfolgte nach der von BINZ et al. (2016) beschriebenen Methode mittels LC-

MS/MS (Flüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie). Die Bestimmungsmethode wurde auch in der Dissertation von WIEST (2018) beschrieben und soll deshalb an dieser Stelle nicht erneut erklärt werden.

5.3. ACTH-Stimulationstest

5.3.1. Vorbereitung der Kühe

Jeder Kuh wurde vor dem ACTH-Test ein Venenverweilkatheter (Angiocath, 2.1 x 133 mm, Becton Dickinson, Basel) in eine der beiden Jugularvenen gelegt (BRAUN, 2002) und mit einer Heidelberger-Verlängerung (Heidelberger-Verlängerung 150 cm x 3 mm, Arcomed, Bassersdorf) versehen, welche mit 3 Stichen am Hals angenäht wurde. Dann wurde die Kuh für 2 Stunden mit physiologischer Kochsalzlösung im langsamen Tropf infundiert. Es wurde darauf geachtet, dass die Kühe während der Versuchsperiode keinen starken akustischen und optischen Reizen ausgesetzt waren.

5.3.2. Durchführung des ACTH-Stimulationstests

Unmittelbar vor dem ACTH-Stimulationstest wurden die Heidelberger-Verlängerung und der Jugularvenenkatheter mit 20 ml phys. NaCl-Lösung gespült und es wurden mit einer Spritze 50 ml Blut angesaugt und verworfen. Dann wurden 20 ml Blut aspiriert und in 2 Serumröhrchen à 10 ml verbracht (Blutprobe zum Zeitpunkt 0). Nach erneuter Spülung von Verlängerung und Katheter wurde ACTH (Synacthen, Sigma-Tau, Rom), 0.125 µg/kg Körpergewicht, mittels einer 1-ml-Spritze in die Verlängerung gegeben und durch eine mit 10 ml phys. NaCl-Lösung gefüllte 10-ml-Spritze in die Jugularvene gespült. Unmittelbar anschliessend wurden die Tiere wieder an die Infusion mit physiologischer NaCl-Lösung im langsamen Tropf angeschlossen, um eine Verstopfung des Jugularvenenkatheters zu verhindern. 30 Minuten später wurden nach der vorher beschriebenen Art und Weise erneut 20 ml Blut aspiriert (Blutprobe zum Zeitpunkt 30 Minuten). Die Blutproben wurden im Veterinärmedizinischen Labor zentrifugiert und das Blutserum wurde für die Cortisolbestimmung abpipettiert und bis zur Analyse bei -20 °C gelagert.

5.3.3. Cortisolbestimmung im Blutserum

Die Cortisolbestimmung in den Blutserumproben erfolgte mit dem Cortisol-Test Cortisol Immulite (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Zürich, Schweiz) durch ein Chemielumineszenzverfahren in einem Vollautomaten (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Zürich, Schweiz) nach dem kürzlich beschriebenen Verfahren (WIEST, 2018; BRAUN et al., 2019). Vor jeder Untersuchungsreihe wurden zwei Kontrollseren gemessen.

5.4. Nebennieren

5.4.1. Entnahme der Nebennieren

Bei den Kühen der Gruppen 2 und 3 wurden die Nebennieren entweder bei der Schlachtung (Gruppe 2) oder bei der Sektion (Gruppe 3) entnommen, in Plastikbehälter verbracht und bis zur Weiterverarbeitung innerhalb von maximal 5 Stunden bei 6 °C aufbewahrt. In den linken Nebennierenrinden wurde das Cortisol bestimmt und die rechten Nebennieren wurden für die morphometrische und histologische Beurteilung verwendet.

5.4.2. Präparation der Nebennieren

Die Nebennieren wurden wie von WIEST (2018) beschrieben präpariert. Die linken Nebennieren wurden bei -70 °C eingefroren und die rechten in 4 %igem Formalin fixiert.

5.4.3. Cortisolextraktion und Cortisolbestimmung in den linken Nebennierenrinden

Die Extraktion des Cortisols aus den linken Nebennierenrinden erfolgte im Institut für Veterinärphysiologie wie beschrieben (KUNTZ et al., 2006; STIRNIMANN, 2017; WIEST, 2018; BRAUN et al., 2019). Die eigentliche Cortisolbestimmung wurde im Veterinärmedizinischen Labor der Universität Zürich wie oben für die Cortisolbestimmung im Blutserum angegeben durchgeführt.

5.4.4. Anfertigen der histologischen Präparate der rechten Nebennieren

Die rechten Nebennieren wurden wie beschrieben (STIRNIMANN, 2017) für die morphometrischen und histologischen Untersuchungen vorbereitet und im Institut für Veterinärpathologie unter der Leitung von Frau Dr. M. Hilbe untersucht. Dabei wurden HE-Schnitte (Hämatoxylin Eosin) angefertigt und nach Anfertigung von digitalen Scans wurden die Kapseldicke, die Breite der drei Cortexschichten (Zona glomerulosa, Zona fasciculata und Zone reticularis) sowie die gesamte Rinden- und Markbreite bestimmt. Da die Zona fasciculata im HE-Schnitt nur sehr schwer von der Zona reticularis zu unterscheiden war, wurden diese Zonen zusammen vermessen. Um eine repräsentative Aussage zu ermöglichen, wurden die Rindenschichten an jeweils 10 Punkten vermessen und daraus der Mittelwert bestimmt. Anschliessend wurde das cortico-medulläre Verhältnis wie von TERIO et al. (2004) beschrieben bestimmt. Zudem wurden die histologischen Schnitte in Bezug auf das Vorliegen von Melanose, knotiger Nebennierenhyperplasie, Sertolicell-like-structures, Lipofuszin, eosinophilen Granula und extramedullärer Hämatopoese beurteilt.

5.5. Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm R (R Core Team, 2016) durchgeführt. Analysiert wurden die Variablen Haarcortisol, Serumbasalcortisol (Probe 0 Min.), Serumcortisol 30 Minuten nach ACTH-Gabe (Probe 30 Min.), relativer und absoluter Anstieg des Serumcortisols zwischen den Proben 0 und 30 Minuten, absolute und relative Gewichte der rechten und linken Nebennieren, Gewicht des linken Nebennierenmarks, Gewicht der linken Nebennierenrinde, Cortisolgehalt der linken Nebennierenrinde sowie morphometrisch erfasste Parameter der rechten Nebennieren (Kapsel, Rinde, Mark, Zona glomerulosa und Zona fasciculata und reticularis). Alle Daten wurden mittels eines Quantile-Quantile-Plots und anschliessend mit dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Nicht normalverteilte Daten wurden logarithmiert, um eine Normalverteilung zu erhalten. Für die deskriptive Statistik wurden für normalverteilte Daten die Mittelwerte mit den Standardabweichungen und für nicht normalverteilte die Medianwerte und die 25- und 75 %-Perzentilen berechnet.

Wurden normalverteilte Daten verglichen, so wurden bei nur 2 Gruppen und gegebener Varianzgleichheit der T-Test und bei nicht vorhandener Varianzgleichheit der Welch-Test durchgeführt. Bei mehr als zwei Gruppen mit Normalverteilung erfolgte eine Varianzanalyse (ANOVA), ebenfalls unter Berücksichtigung der Varianzgleichheit. Die Varianzgleichheit wurde mit dem Levenetest geprüft. Wenn die ANOVA signifikante Unterschiede ergab, wurden diese mittels des Post-Hoc-Tests nach Tukey weiteranalysiert.

Die Daten, welche auch durch Logarithmieren nicht normal verteilt werden konnten, wurden bei 2 Gruppen mittels des Mann-Whitney-U-Tests analysiert und bei mehr als 2 Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Ergab der Kruskal-Wallis-Test signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, wurde noch ein Dunn-Bonferroni-Test durchgeführt.

Korrelationen zwischen 2 normal bzw. nicht normal verteilten Variablen wurden mittels Pearson- bzw. Spearman-Analyse berechnet.

Sechs Kühe (je eine Kuh in den Gruppen 1, 2 und 3B und drei Kühe in der Gruppe 3A) wiesen Cortisolkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze von 0.5 pg/mg Haar auf. Die Werte dieser Proben wurden für die statistische Auswertung auf 0.2 pg/mg gesetzt.

Sechs Kühe (eine Kuh der Gruppe 1, drei Kühe der Gruppe 2, zwei Kühe der Gruppe 3B) wiesen basale Serumcortisolkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze von 0.2 µg Cortisol/dl Serum auf. Diese Werte wurden für die statistische Auswertung auf 0.1 µg/dl gesetzt.

Das Signifikanzniveau betrug für alle Tests 0.05.

5.6. Tierversuchsbewilligung

Für die Untersuchungen lag eine Tierversuchsbewilligung (ZH137/16) vor, welche vom 29. Juli 2016 bis zum 28. Juli 2018 gültig war.

5.7. Zusammenarbeit mit anderen Institutionen

Die folgenden Institutionen und Personen waren am Zustandekommen der vorliegenden Dissertation beteiligt:

- Zentrum für Forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin (Dr. M. Baumgartner): Bearbeitung der Haarproben durch Frau PD Dr. T. Binz und ihre Mitarbeiterinnen.
- Institut für Veterinärphysiologie (Prof. Dr. T. Lutz): Cortisolextraktion aus den linken Nebennierenrinden durch Frau Dr. Kerstin Linder.
- Veterinärmedizinisches Labor (Prof. Dr. R. Hofmann-Lehmann): Cortisolbestimmung aus dem Serum und den Nebennierenrindenextrakten durch Frau Dr. B. Riond und Mitarbeiterinnen des Veterinärmedizinischen Labors.
- Institut für Veterinär-Pathologie (Prof. Dr. A. Kipar): Durchführung der histologischen Schnitte und Anleitung der histologischen Untersuchungen durch Frau Dr. M. Hilbe.
- Frau Daniela Keller, Statistik und Beratung, D-97273 Kürnach: Beratung bei den statistischen Analysen.

6. ERGEBNISSE

6.1. Haarcortisolkonzentrationen

6.1.1. Gruppe 1: 10 gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs

Die Haarcortisolkonzentration der Gruppe 1 lag zwischen 0.2 und 2.0 pg/mg Haar (Medianwert = 1.1 pg/mg) (Tab. 1).

6.1.2. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe

Bei der Gruppe 2 variierte die Haarcortisolkonzentration zwischen 0.2 und 2.3 pg/mg (Medianwert = 1.1 pg/mg).

6.1.3. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung

Die 31 Kühe der Gruppe 3A ohne Glukokortikoidvorbehandlung wiesen eine Haarcortisolkonzentration zwischen 0.2 und 3.9 pg/mg (Medianwert = 1.0 pg/mg) und die 10 Kühe der Gruppe 3B mit Glukokortikoidvorbehandlung eine solche von 0.2 bis 1.9 pg/mg (Medianwert = 0.9 pg/mg) auf.

6.1.4. Vergleich der Gruppen

Die Haarcortisolkonzentrationen der verschiedenen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Zwischen dem Alter, dem Körpergewicht und der Haarcortisolkonzentration wurden keine signifikanten Korrelationen festgestellt. Zwischen dem Alter und der Haarcortisolkonzentration betrug der Korrelationskoeffizient r -0.02 und zwischen dem Körpergewicht und der Haarcortisolkonzentration -0.05.

Tab. 1: Haarcortisolkonzentrationen bei 10 gesunden Kühen, 10 Schlachtkühen und 41 Kühen mit verschiedenen Krankheiten (Medianwerte, Min.-/Max.werte)

Gruppe	Bezeichnung	Anzahl Tiere	Haarcortisol (pg/mg Haar)	
			Medianwerte (Min. – Max.)	25- bis 75 % Perzentilen
1	Gesunde Rinder des Agro-Vet-Strickhofs	10	1.1 (0.2 – 2.0)	0.8 – 1.7
2	Gesunde Schlachtkühe	10	1.1 (0.2 – 2.3)	0.8 – 1.4
3A ¹	Kranke Kühe ohne Glukokortikoidvorbehandlung	31	1.0 (0.2 – 3.9)	0.6 – 1.4
3B ¹	Kranke Kühe mit Glukokortikoidvorbehandlung	10	0.9 (0.2 – 1.9)	0.8 – 1.1

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 41, Medianwert = 0.9 pg Cortisol/mg Haar, Min. – Max. = 0.2 – 3.9 pg Cortisol/mg Haar, 25- bis 75 %-Perzentilen = 0.6 – 1.3 pg Cortisol/mg Haar

6.2. ACTH-Stimulationstest

Bei allen Gruppen waren die Cortisolkonzentrationen 30 Minuten nach der ACTH-Injektion signifikant höher als zum Zeitpunkt 0 ($P < 0.01$).

6.2.1. Gruppe 1: Gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs

Die Serumcortisolkonzentrationen (Medianwerte) lagen initial bei 0.6 und 30 Minuten nach der Verabreichung von ACTH bei 6.9 $\mu\text{g/dl}$ (Abb. 1, Tab. 2). Der absolute Anstieg betrug 5.7 $\mu\text{g/dl}$ und der relative 948 %.

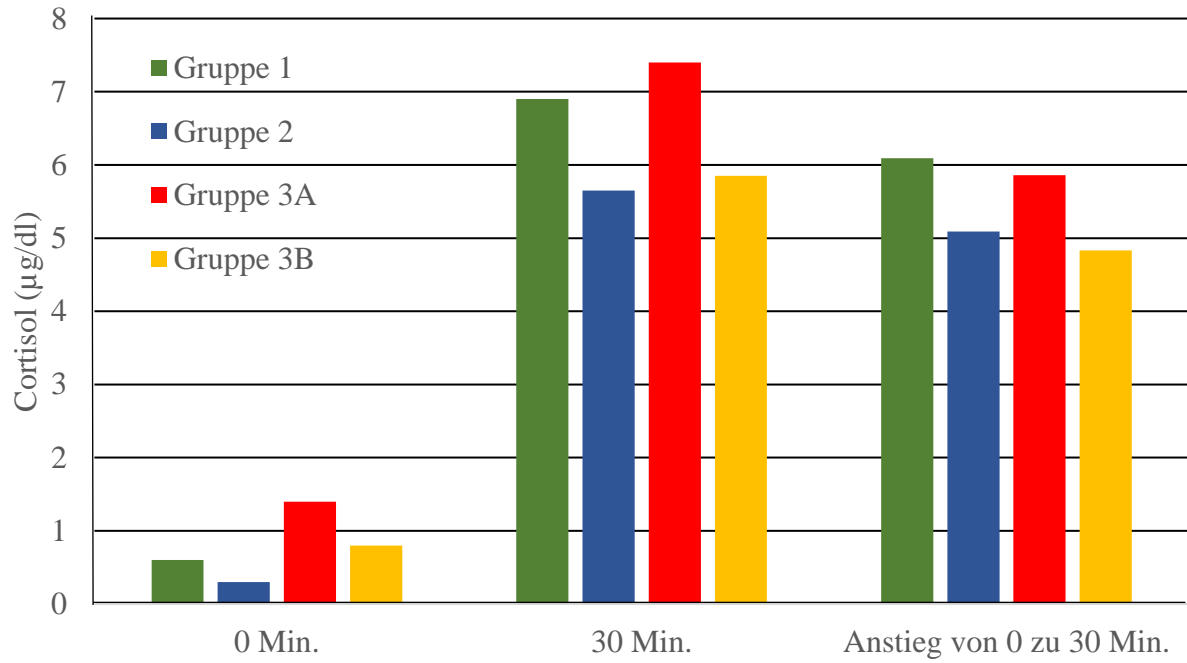
6.2.2. Gruppe 2: Gesunde Schlachtkühe

Der basale Cortisolwert lag bei 0.3 und der 30-Minutenwert bei 5.7 $\mu\text{g/dl}$ Blutserum. Die Differenz zwischen den beiden Zeitpunkten betrug 5.2 $\mu\text{g/dl}$ bzw. 1733 %.

6.2.3. Gruppe 3: Kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung

Bei der Gruppe 3A betrug die basale Cortisolkonzentration im Serum 1.4 und die ACTH-induzierte 7.4 und in der Gruppe 3B 0.8 bzw. 5.9 $\mu\text{g/dl}$. Die absoluten Anstiege lagen bei 5.6 bzw. 4.6 $\mu\text{g/dl}$ und die relativen bei 493 bzw. 589 %.

Abb. 1: Cortisolkonzentrationen im Blutserum bei 20 gesunden und 41 kranken Kühen vor und 30 Minuten nach ACTH-Injektion (Medianwerte)



Tab. 2: ACTH-Test bei 20 gesunden und 41 kranken Kühen der Gruppen 1 bis 3 (Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern, 25- und 75 %-Perzentilen)

Gruppe	Bezeichnung	Anzahl Tiere	Cortisol initial ($\mu\text{g}/\text{dl}$)		Cortisol 30 Min. post ACTH ($\mu\text{g}/\text{dl}$)		Anstieg		Differenz 0 zu 30 Min.
			Medianwerte	25- bis 75 %	Medianwerte	25- bis 75 %	Absolut ($\mu\text{g}/\text{dl}$) (25- bis 75 %)	Relativ (%) ²	
1	Gesunde Kühe des AgroVet-Strickhofs	10	0.6 (0.1 – 1.8)	0.4 – 0.9	6.9 (5.5 – 8.1)	5.9 – 7.8	5.7 (5.2 – 7.1)	948	P < 0.01
2	Gesunde Schlachtkühe	10	0.3 ^a (0.1 – 1.9)	0.2 – 0.5	5.7 ^b (4.2 – 7.0)	4.8 – 6.2	5.2 (4.0 – 6.1)	1733 ^c	P < 0.01
3A ¹	Kranke Kühe ohne Glukokortikoidvorbehandlung	31	1.4 ^a (0.2 – 13.6)	0.7 – 2.0	7.4 ^b (3.7 – 15.4)	5.9 – 9.2	5.6 (4.3 – 7.3)	493 ^c	P < 0.01
3B ¹	Kranke Kühe mit Glukokortikoidvorbehandlung	10	0.8 (0.1 – 3.8)	0.3 – 1.9	5.9 (2.0 – 15.0)	3.7 – 6.9	4.6 (2.7 – 6.1)	589	P < 0.01

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 41, Medianwert initial 1.2, 30 Min. post ACTH 6.9 μg Cortisol/dl Serum, Anstieg absolut 5.70 $\mu\text{g}/\text{dl}$ Serum (2.70), 25- bis 75 %-Perzentilen absoluter Anstieg 4.0 – 7.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$, Anstieg prozentual 515 %, Differenz P < 0.01, 25- bis 75 %-Perzentilen Basalcortisol = 0.6 - 2.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 25- bis 75 %-Perzentilen 30-Minutencortisol = 5.7 – 8.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$

² Die prozentualen Werte wurden für jede Kuh separat berechnet und danach wurde daraus der Median gebildet

^{a, b, c} Gruppen mit gleichen Indizes unterscheiden sich signifikant (a:a P < 0.01; b:b P < 0.05; c:c P < 0.05)

6.2.4. Vergleich der Gruppen

Die basale Serumcortisolkonzentration der Gruppe 2 war mit 0.3 µg/dl signifikant tiefer als diejenige der Gruppe 3 mit 1.2 und deren Untergruppe 3A mit 1.4 µg/dl ($P < 0.01$).

Die 30-Minuten-Werte der Gruppe 2 waren signifikant tiefer als diejenige der Gruppe 3 und der Untergruppe 3A ($P < 0.05$). Die absoluten Anstiege der Serumcortisolkonzentrationen unterschieden sich nicht signifikant. Die prozentuale Zunahme war jedoch bei der Gruppe 2 mit 1733 % signifikant grösser als bei der Gruppe 3 mit 515 % ($P < 0.01$) und der Untergruppe 3A mit 493 % ($P < 0.05$).

6.3. Untersuchte Nebennieren

Die Kühe der Gruppe 1 wurden nicht geschlachtet. Die Nebennieren konnten deshalb nicht untersucht werden. In der Gruppe 2 konnten bei 9 von 10 und in der Gruppe 3 bei 37 von 41 Kühen beide Nebennieren untersucht werden. Bei 2 weiteren Kühen der Gruppe 3 konnten die Nebennieren nur unvollständig entfernt werden. Es war deshalb nicht möglich, deren Gewicht zu bestimmen. Bei den restlichen beiden Kühen konnte nur die linke bzw. rechte Nebenniere gewonnen werden.

6.3.1. Nebennierengewichte

6.3.1.1. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe

Die Gewichte der linken Nebennieren lagen zwischen 9.65 und 30.26 (17.84 ± 6.76 g) und diejenigen der rechten zwischen 8.23 und 23.95 g (14.73 ± 5.52 g) (Tab. 3). Die linken Nebennieren waren bei allen Kühen schwerer als die rechten, der Unterschied war jedoch nicht signifikant.

6.3.1.2. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung

Die Gewichte der linken Nebennieren lagen bei der Gruppe 3A zwischen 13.71 und 32.56 (21.21 ± 4.43 g) und diejenigen der rechten zwischen 11.16 und 26.32 g (19.16 ± 3.75 g) (Tab. 3). Die linken Nebennieren waren bei 82 % der Kühe schwerer als die rechten. Der Unterschied war jedoch wie bei der Gruppe 2 nicht signifikant.

Die Gewichte der linken Nebennieren lagen bei der Gruppe 3B zwischen 9.20 und 36.57 (24.95 ± 9.00 g) und diejenigen der rechten zwischen 7.03 und 32.27 g (21.22 ± 8.34 g) (Tab. 3). Die linken Nebennieren waren bei allen Kühen schwerer als die rechten. Der Unterschied war jedoch wie bei der Gruppe 2 nicht signifikant.

6.3.1.3. Vergleich der Gruppen

Zwischen den absoluten Gewichten der linken Nebennieren bestanden keine signifikanten Unterschiede (Gruppen 2, 3A und 3B).

Tab. 3: Linke und rechte Nebennierengewichte der Gruppen 2, 3A und 3B (Mittelwerte und Standardabweichungen)

Parameter	Nebenniere	Gewichte der Nebennieren (g)		
		Gruppe 2 (n = 9)	Gruppe 3A (n = 29) ¹	Gruppe 3B (n = 9) ¹
Gewicht absolut (g)	Links	17.84 (6.76)	21.21 (4.43)	24.95 (9.00)
	Rechts	14.73 (5.52)	19.16 (3.75)	21.22 (8.34)
Gewicht relativ (%)	Links	0.0308 (0.0118)	0.0335 (0.0078)	0.0408 ^{a, b} (0.0062)
	Rechts	0.0254 (0.0093)	0.0312 (0.0051)	0.0343 ^a (0.0068)

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 38, absolutes Nebennierengewicht (g) links 22.06 (5.96), rechts 19.55^a (5.04), relatives Nebennierengewicht (%) links 0.0358 (0.0071), rechts 0.0318 (0.0056)

^a Differenz zur Gruppe 2, P < 0.05

^b Differenz zur Gruppe 3A, P < 0.05

6.4. Gewicht und Cortisolgehalt der linken Nebennieren

6.4.1. Gruppe 2: 10 gesunde Schlachtkühe

Das Gewicht des linken Nebennierenmarks variierte zwischen 2.48 und 5.62 g ($4.10 \text{ g} \pm 1.15 \text{ g}$) und dasjenige der linken Nebennierenrinde zwischen 6.75 und 24.95 g ($13.74 \pm 5.81 \text{ g}$) (Tab. 4). Die Cortisolkonzentration der Nebennierenrinde lag zwischen 0.11 und 4.95 $\mu\text{g/g}$ ($2.27 \pm 1.76 \mu\text{g/g}$) (Tab. 4). Der Gesamtcortisolgehalt der linken Nebennierenrinde schwankte zwischen 0.56 und 54.48 μg ($25.98 \pm 19.98 \mu\text{g}$) (Tab. 4).

6.4.2. Gruppe 3: 41 kranke Kühe ohne (3A) und mit (3B) Glukokortikoidvorbehandlung

Bei der Gruppe 3A wies das linke Nebennierenmark ein Gewicht zwischen 2.34 und 9.03 ($5.38 \pm 1.79 \text{ g}$) und dasjenige der Nebennierenrinde ein solches zwischen 10.14 und 23.53 g (15.78 g

± 3.20 g) auf (Tab. 4). Die Cortisolkonzentration der linken Nebennierenrinde variierte bei der Gruppe 3A zwischen 0.10 und 6.19 $\mu\text{g/g}$ (Median = 1.38 $\mu\text{g/g}$) (Tab. 4). Der Gesamtcortisolgehalt der linken Nebennierenrinde schwankte zwischen 1.05 und 101.41 μg (Median 21.06 μg) (Tab. 4).

Bei der Gruppe 3B wies das linke Nebennierenmark ein Gewicht zwischen 2.67 und 8.72 (6.43 g \pm 2.01 g) und dasjenige der Nebennierenrinde ein solches zwischen 6.53 und 28.24 g (18.47 \pm 7.39 g) auf (Tab. 4). Die Cortisolkonzentration der linken Nebennierenrinde variierte bei der Gruppe 3B zwischen 0.12 und 2.97 $\mu\text{g/g}$ (1.27 \pm 0.9 $\mu\text{g/g}$) (Tab. 4). Der Gesamtcortisolgehalt der linken Nebennierenrinde lag zwischen 2.06 und 83.95 μg (28.70 \pm 27.54 μg) (Tab. 4).

6.4.3. Vergleich der Gruppen 2, 3A und 3B

Die Gewichte der Nebennierenrinden der Gruppen 2, 3A und 3B unterschieden sich nicht signifikant (Tab. 4). Im Gegensatz dazu war das Nebennierenmark der Gruppe 3B signifikant schwerer als dasjenige der Gruppe 2.

Zwischen den Cortisolkonzentrationen und den Cortisolgehalten der linken Nebennierenrinden der Gruppen 2, 3A und 3B, lagen keine statistisch signifikanten Unterschiede vor.

Zwischen den Nebennierengewichten und den absoluten Nebennierenrindencortisolkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen. Das Gleiche gilt für die Korrelationen zwischen den relativen Gewichten der linken Nebennieren und der Cortisolkonzentrationen von dessen Rinden.

Tab. 4: Gewichte von Nebennierenmark und Nebennierenrinde links und Cortisolkonzentration und Gesamtcortisolgehalt der linken Nebennierenrinden bei den Gruppen 2, 3A und 3B (Mittelwerte \pm Standardabweichungen bzw. Medianwerte und 5- bis 95%-Perzentilen)

Gruppe	Gewicht linkes Nebennierenmark (g)	Gewicht linke Nebennierenrinde (g)	Cortisolkonzentration linke Nebennierenrinde ($\mu\text{g/g}$)	Gesamtcortisolgehalt linke Nebennierenrinde (μg)
2 (n = 9)	4.10 \pm 1.15	13.74 \pm 5.81	2.27 \pm 1.76	25.98 \pm 19.98
3A ¹ (n = 29)	5.38 \pm 1.79	15.78 \pm 3.20	1.38 ² (0.23 – 5.71)	21.06 (4.24 – 95.73)
3B ¹ (n = 9)	6.43 \pm 2.01 ^a	18.47 \pm 7.39	1.27 \pm 0.9 ³	28.70 \pm 27.54

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 38, Gewicht linkes Nebennierenmark 5.63 g (\pm 1.88 g), Gewicht linke Nebennierenrinde 16.43 g (\pm 4.60 g), Median Cortisolkonzentration in der Nebennierenrinde 1.23 $\mu\text{g/g}$, Median Cortisolgehalt linke Nebennierenrinde 22.61 μg (2.12 – 93.19)

² n = 30

³ n = 10

^a Differenz zur Gruppe 2: P < 0.05

6.5. Morphometrische und histologische Untersuchungen der rechten Nebennieren

6.5.1. Morphometrische Untersuchungen

Die Nebennierenkapsel der 3 Gruppen wies eine Dicke zwischen 53 und 624 μm auf (Tab. 5). Die 3 Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Bei den Kühen der Gruppen 3A (4190 μm) und 3B (3885 μm) war die Nebennierenrinde signifikant dicker (P < 0.01) als bei denjenigen der Gruppe 2 (3425 μm). Ebenso unterschieden sich die Werte der Gruppen 3A und 3B signifikant (P < 0.01). Das Nebennierenmark der Gruppe 3A (4795 μm) war signifikant dicker als jenes der Gruppe 3B (4210 μm) (P < 0.05). Die Zona glomerulosa der Gruppe 2 wies eine mediane Dicke von 373 μm auf und war damit signifikant dünner als diejenige der Gruppe 3A mit 406 μm (P < 0.05). Die Medianwerte der Zona fasciculata und Zona reticularis der Gruppen 2, 3A und 3B betrugen 2820, 3520 und 3095 μm und unterschieden sich signifikant. So war dieser Messwert bei der Gruppe 3B signifikant dicker als bei Gruppe 2 und signifikant dünner als bei Gruppe 3A (P < 0.01). Die Gruppe 3A wies signifikant dickere Werte auf als die Gruppe 2 (P < 0.01).

Das corticomedulläre Verhältnis schwankte bei der Gruppe 2 zwischen 0.89 und 1.62 (Medianwert = 1.39), bei der Gruppe 3A zwischen 0.63 und 1.99 (1.15) und bei der Gruppe 3B zwischen 0.73 und 1.93 (1.08) (Tab. 5). Zwischen den corticomedullären Verhältnissen bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 5: Vermessungen der unterschiedlichen Schichten im histologischen Schnitt der rechten Nebennieren, Median, in Klammer Minimal- und Maximalwert in μm

Parameter	Gruppen		
	2 (n = 9)	3A (n = 30) ¹	3B (n = 10) ¹
Nebennierenkapsel (μm)	238 (83, 557)	241 (53, 624)	227 (87, 571)
Nebennierenrinde (gesamt, μm)	3425 (2190, 5740)	4190 ^a (2320, 9300)	3885 ^b (2010, 7740)
Nebennierenmark (μm)	4680 (2330, 7240)	4795 ^c (1020, 9270)	4210 (2060, 8870)
Z. glomerulosa (μm)	373 ^d (166, 984)	406 (109, 1370)	366 (151, 1540)
Z. fasciculata + Z. reticularis (μm)	2820 (1570, 5180)	3520 ^b (1160, 8830)	3095 ^e (1530, 6880)
Corticomedulläres Verhältnis	1.39 (0.89, 1.62)	1.15 (0.63, 1.99)	1.08 (0.73, 1.93)

^a Differenz zu Gruppe 2 und 3B: $P < 0.01$

^b Differenz zu Gruppe 2: $P < 0.01$

^c Differenz zu Gruppe 3B: $P < 0.05$

^d Differenz zu Gruppe 3A: $P < 0.05$

^e Differenz zu Gruppe 2 und 3A: $P < 0.01$

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 40, Nebennierenkapsel (μm) 238 (53, 624), Nebennierenrinde (gesamt, μm) 4130 (2010, 9300), Nebennierenmark (μm) 4560 (1020, 9270), Z. glomerulosa (μm) 399 (109, 1540), Z. fasciculata + reticularis (μm) 3445 (1160, 8830)

6.5.2. Histologische Untersuchung der Nebennieren

Die wichtigsten abnormen histologischen Befunde waren eosinophile Granula bei 50 bis 80 %, noduläre Hyperplasien bei 0 bis 33 %, extramedulläre Hämatopoesen bei 7 bis 20 %, Sertolizellen-ähnliche Strukturen bei 0 bis 20 %, Melanosen bei 10 bis 22 % und Lipofuszin bei 3 bis 44 % der Kühe.

Tab. 6: Histologische Veränderungen der Nebennieren bei den Gruppen 2, 3A und 3B (in Prozenten, absolute Zahlen in Klammern)

Histologische Veränderungen	Gesamt (n = 49)	Gruppe 2 (n = 9)	Gruppe 3A ¹ (n = 30)	Gruppe 3B ¹ (n = 10)
Eosinophile Granula	59 % (29)	67 % (6)	50 % (15)	80 % (8)
Noduläre Hyperplasie	27 % (13)	0 % (0)	33 % (10)	30 % (3)
Extramedulläre Hämatopoese	10 % (5)	11 % (1)	7 % (2)	20 % (2)
Sertolizellen-ähnliche Strukturen	4 % (2)	0 % (0)	0 % (0)	20 % (2)
Melanose	14 % (7)	22 % (2)	13 % (4)	10 % (1)
Lipofuszin	14 % (7)	44 % ^a (4)	3 % (1)	20 % (2)

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 40, eosinophile Granula 58 % (23), noduläre Hyperplasie 33 % (13), extramedulläre Hämatopoese 10 % (4), Sertolizellen-ähnliche Strukturen 5 % (2), Melanose 13 % (5), Lipofuszin 8 % (3)

^a Differenz zur Gruppe 3A: P < 0.05

Bei der Gruppe 2 wurde mit 44 % der Fälle signifikant öfter Lipofuszin nachgewiesen als bei der Gruppe 3A (P < 0.05). Die übrigen Befunde unterschieden sich zwischen den 3 Gruppen in Bezug auf die Häufigkeit ihres Auftretens nicht signifikant.

6.6. Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern

6.6.1. Nebennierenrinden- und Haarcortisolkonzentrationen

Zwischen den Cortisolkonzentrationen der linken Nebennierenrinde und den Haarcortisolkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen. Die Korrelationskoeffizienten r betragen zwischen den beiden Parametern in der Gruppe 2 0.65 ($P = 0.06$) und in der Gruppe 3B -0.50 ($P = 0.13$).

6.6.2. Basale Blutcortisol- und Haarcortisolkonzentrationen

Zwischen den basalen Blut- und den Haarcortisolkonzentrationen bestanden bei keiner Gruppe signifikante Korrelationen (Gruppe 1, $r = -0.00$, $P = 0.99$; Gruppe 2, $r = -0.10$, $P = 0.78$; Gruppe 3A, $r = -0.03$, $P = 0.89$; Gruppe 3B, $r = -0.50$, $P = 0.14$).

6.6.3. ACTH-stimulierte Cortisol- und Haarcortisolkonzentrationen

Zwischen den ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen im Blut und den Haarcortisolkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen (Gruppe 1, $r = 0.17$, $P = 0.63$; Gruppe 2, $r = -0.39$, $P = 0.26$; Gruppe 3A $r = -0.12$, $P = 0.54$; Gruppe 3B $r = -0.25$, $P = 0.45$).

6.6.4. Nebennierengewichte und ACTH-stimulierte Blut- bzw. Haarcortisolkonzentrationen

Zwischen den Nebennierengewichten und den ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen bzw. den Haarcortisolkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen (Tab. 7).

Tab. 7: Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern im Blut, in den Haaren und in den Nebennieren

Parameter	Gruppe	r	P
Cortisolanstieg ¹ x Gewicht linke Nebenniere	2	0.05	0.89
	3A	-0.34	0.89
	3B	0.34	0.37
Cortisolanstieg ¹ x Gewicht rechte Nebenniere	2	0.14	0.72
	3A	0.00	0.98
	3B	0.27	0.49
Cortisolanstieg ¹ x relatives Gewicht linke Nebenniere	2	0.10	0.79
	3A	0.02	0.9
	3B	0.38	0.31
Cortisolanstieg ¹ x relatives Gewicht rechte Nebenniere	2	0.20	0.61
	3A	0.00	0.99
	3B	0.21	0.58
Haarcortisolkonzentration x absolutes Gewicht linke Nebenniere	2	-0.12	0.77
	3A	0.26	0.17
	3B	-0.30	0.44
Haarcortisolkonzentration x absolutes Gewicht rechte Nebenniere	2	-0.14	0.72
	3A	0.33	0.08
	3B	0.30	0.45
Haarcortisolkonzentration x relatives Gewicht linke Nebenniere	2	-0.33	0.38
	3A	0.30	0.10
	3B	0.08	0.83
Haarcortisolkonzentration x relatives Gewicht rechte Nebenniere	2	0.36	0.36
	3A	0.26	0.16
	3B	-0.01	0.97
Nebennierenrindencortisolkonzentration x Haarcortisolkonzentration	2	0.65	0.06
	3A	0.19	0.31
	3B	-0.50	0.13

¹Differenz zwischen der stimulierten und der basalen Serumcortisolkonzentration

6.6.5. Beziehung zwischen der Nebennierenrindencortisolkonzentration und der ACTH-stimulierten Cortisolkonzentration

Zwischen den Cortisolgehalten der linken Nebennierenrinden und den ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen bestanden bei allen Gruppen keine signifikanten Korrelationen (Gruppe 2, $r = 0.06$, $P = 0.88$; Gruppe 3A, $r = 0.30$, $P = 0.11$; Gruppe 3B, $r = 0.04$, $P = 0.92$).

6.7. Glutaraldehydtest

Der Glutaraldehydtest gerann bei allen Kühen der Gruppe 1 nach 10 bis 15 Minuten (Normalbefund) (Tab. 8). Bei den Kühen der Gruppen 2, 3A und 3B war dies nur bei 60, 29 und 22 % der Fall. Bei 30, 54 und 55 % dieser Kühe war die Koagulationszeit des Glutaltests mit Werten ≤ 6.0 Minuten verkürzt. Die mediane Gerinnungsdauer betrug 4.0 (Gruppe 2), 3.0 (Gruppe 3A) und 3.5 Minuten (Gruppe 3B), wobei die Werte von 30 Kühen mit einer nicht exakt erfassten Gerinnungsdauer über 10 Minuten nicht in die Berechnung der Medianwerte miteinbezogen wurden.

Tab. 8: Gerinnungsdauer des Glutaraldehydtests bei 58 Kühen der Gruppen 1, 2, 3A und 3B

Dauer bis zur Gerinnung (Minuten)	Gruppe 1 n = 10	Gruppe 2 n = 10	Gruppe 3A ¹ n = 29	Gruppe 3B ¹ n = 9
0.5 – 3.0	0 (0 %)	2 (20 %)	10 (34 %)	3 (33 %)
3.1 – 6.0	0 (0 %)	1 (10 %)	6 (20 %)	2 (22 %)
6.1 – 10.0	0 (0 %)	1 (10 %)	1 (3 %)	2 (22 %)
> 10 (gerinnt)	10 (100 %)	6 (60 %)	8 (29 %)	2 (22 %)
> 10 (keine Gerinnung)	0 (0 %)	0 (0 %)	4 (14 %)	0 (0 %)

¹ Gruppe 3 (3A und 3B zusammengefasst): n = 38, Dauer bis Gerinnung Minuten 0.5 – 3.0 34 % (13), 3.1 – 6.0 21 % (8), 6.1 – 10.0 9 % (3), > 10 (gerinnt) 25 % (10), > 10 (keine Gerinnung) 11 % (4), Medianwert 3 Minuten

7. DISKUSSION

7.1. Haarcortisolkonzentrationen

Die Medianwerte der Haarcortisolkonzentrationen betragen in den Gruppen 1, 2, 3A und 3B 1.1, 1.1, 1.0 und 0.9 pg/mg. Bei akut kranken Kühen betrug der Medianwert 0.56 und bei chronisch kranken 1.37 pg/mg Haar (BRAUN et al., 2017a). Bei gesunden Kühen betrug die durchschnittliche Cortisolkonzentration 0.69 pg/mg Haar (BRAUN et al., 2017b). COMIN et al. (2011) fanden bei gesunden Milchkühen Haarcortisolkonzentrationsmittelwerte zwischen 2.1 und 2.9 pg/mg und in einer späteren Untersuchung (COMIN et al., 2012) solche von 4.02 ± 0.17 pg/mg. Bei Kühen, die innerhalb des letzten Monats klinisch krank waren, wurden Medianwerte von 5.12 und bei gesunden solche von 3.29 pg Cortisol/mg Haar ermittelt (COMIN et al., 2013). BURNETT et al. (2014) fanden in einer Studie bei Milchkühen Haarcortisolmittelwerte von 5.7 ± 1.7 pg/mg. In einer weiteren Untersuchung von BURNETT et al. (2015) wurden bei gesunden Milchkühen von unmittelbar post partum bis 126 Tage danach (jede 3. Woche Haarprobenentnahme) Haarcortisolmittelwerte von 9.8 ± 3.8 pg/mg und bei klinisch kranken von 12.6 ± 5.6 pg/mg gemessen. PERIC et al. (2013) stellten bei reinrassigen Holsteinrindern einen Medianwert von 5.38 und bei Kreuzungstieren einen solchen von 4.40 pg/mg Haar fest. MOYA et al. (2013) fanden bei Mastkühen Haarcortisolmittelwerte von 2.35 ± 0.18 pg/mg, während TALLO-PARRA et al. (2015) in weissen Haaren von Milchkühen eine Haarcortisolkonzentration von 2.1 ± 1.1 pg/mg und in schwarzen eine solche von 3.9 ± 1.44 pg/mg massen.

Die sehr unterschiedlichen Haarcortisolkonzentrationen können verschiedene Ursachen haben. So führt z. B. eine starke Zerkleinerung der Haare oder sogar eine Pulverisierung mit einem Mörser zu höheren Cortisolkonzentrationen (DAVENPORT et al., 2006; BURNETT et al., 2014). Den wichtigsten Einfluss hat allerdings die Analysemethode. In den Studien von BRAUN et al. (2017a, b) wurde die Flüssigkeitschromatographie mit der Massenspektroskopie angewandt. Alle anderen Untersucher verwendeten ELISA (MOYA et al., 2013; BURNETT et al., 2014, 2015; TALLO-PARRA et al., 2015) und RIA (COMIN et al., 2011, 2012, 2013; PERIC et al., 2013), um die Cortisolkonzentration in den Haaren zu messen.

Auch die Körperregion kann einen Einfluss auf die Cortisolkonzentration ausüben (MACBETH et al., 2010; ASHLEY et al., 2011; MOYA et al., 2013; TERWISSEN et al., 2013; BURNETT et al., 2014; TALLO-PARRA et al., 2017). Weitere Einflussfaktoren können die Haarfarbe (GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; BURNETT et al., 2014; TALLO-PARRA et al., 2015), der Body-Condition-Score (BURNETT et al., 2015), das Alter, die Umgebung und die Umwelt (COMIN et al., 2011; BURNETT et al., 2014) darstellen.

In dieser Studie konnten im Gegensatz zu SHARMA et al. (2019) keine signifikanten Korrelationen zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und dem Alter der Tiere festgestellt werden. Die Messmethoden sowie die Einflüsse von Haarfarbe, Entnahmestelle und Alter wurden vor Kurzem ausführlich erörtert (CLAVADETSCHER, 2016; MICHEL, 2016; WIEST, 2018) und sollen an dieser Stelle nicht weiter diskutiert werden.

7.2. Haarcortisolkonzentrationen bei gesunden Milchkühen, bei Schlachtkühen und bei kranken Kühen

Die Haarcortisolkonzentrationen der gesunden Milchkühe (Gruppe 1), der Schlachtkühe (Gruppe 2) und der kranken Kühe (Gruppen 3A und 3B) unterschieden sich nicht signifikant. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Studien. COMIN et al. (2013) fanden bei Kühen mit klinisch manifesten Krankheiten wie Mastitis, Metritis oder Klauenrehe signifikant höhere Cortisolkonzentrationen in den Haaren. BRAUN et al. (2017a) hatten bei chronisch kranken Kühen signifikant höhere Haarcortisolkonzentrationen festgestellt als bei akut kranken, während sich die Haarcortisolkonzentrationen von Kühen mit subklinischer Endometritis und gesunden Kühen nicht signifikant unterschieden (BURNETT et al., 2015).

Möglicherweise waren die Kühe der Gruppe 3 in der vorliegenden Studie zu wenig lange oder zu wenig schwer krank, um signifikant höhere Haarcortisolkonzentrationen durch eine längerfristige Aktivierung der HPA aufzuweisen (COMIN et al., 2013). Ähnliche Ergebnisse lieferte die Studie von BRAUN et al. (2017b), welche bei akut kranken und sofort behandelten Milchkühen keine signifikanten Haarcortisolkonzentrationsunterschiede vor bzw. nach der Erkrankung feststellen konnte.

Die Verabreichung eines Glukokortikoids bei den Kühen der Gruppe 3B war bei allen Kühen innerhalb der letzten 7 Lebenstage erfolgt, was vermutlich für eine signifikante Erhöhung der Haarcortisolkonzentration zu kurzfristig ist (COMIN et al., 2013). GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al. (2011) konnten erst 14 Tage nach einer ACTH-Injektion eine erhöhte Cortisolkonzentration in den Haaren feststellen. Dies lässt die Vermutung zu, dass die ACTH-stimulierte Cortisolfreisetzung aus den Nebennieren zu den erhöhten Haarcortisolkonzentrationen geführt hatten. In der vorliegenden Studie konnten die Haare nach der Cortisolgabe bis zur Entnahme vermutlich zu wenig lange wachsen, um eine Haarcortisolkonzentrationserhöhung festzustellen.

7.3. ACTH-Stimulationstest

7.3.1. Basalcortisolkonzentrationen

Die basalen Serumcortisolkonzentrationen der Gruppen 1 und 3B unterschieden sich nicht signifikant und diejenige der Gruppe 2 war signifikant tiefer als diejenige der Gruppe 3A. Die Interpretation dieses Unterschieds ist jedoch schwierig und muss zurückhaltend erfolgen, da der Serumcortisolspiegel starke zirkadiane Schwankungen aufweist (MÖSTL und PALME, 2002; GILOR und GRAVES, 2011; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011). Die basale Serumcortisolkonzentration hängt zudem stark von Management, Handling, Temperament, Ortswechsel bzw. Transport, Laktationsstadium, Meereshöhe, Diät, Futteraufnahme, Umwelttemperatur, Milchleistung, Zuchtlinie, Isolation und Fixation ab (HOFFMANN et al., 1973; HERD, 1989; BRUCKMAIER et al., 1993; HASEGAWA et al., 1997; RUSHEN et al., 1999, 2001; SMITH und DOBSON, 2002; DAVENPORT et al., 2006; CURLEY et al., 2008; BARTL et al., 2009; PETHERICK et al., 2009; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; PERIC et al., 2013; FIEGUTH, 2014). In dieser Studie konnten nicht alle ACTH-Stimulationstests zur selben Uhrzeit durchgeführt werden. Die Gruppe 3A wies einige der höchsten Basalwerte auf und diese waren tendenziell auch höher als die der anderen Gruppen. Es ist denkbar, dass die erhöhten Werte durch den krankheitsbedingten Stress verursacht wurden, ähnlich wie dies bei Geparden durch den chronischen Stress wegen der Gefangenschaft festgestellt wurde (TERIO et al., 2004). SCHEIDEGGER et al. (2017) konnten bei Pferden mit mittelgradigem Befall der Pars glandularis mit Magenulzera keine signifikant höheren Serumbasalcortisolkonzentrationen finden als bei solchen mit milden oder keinen Ulzera. Abschliessend soll darauf hingewiesen werden, dass auf die Interpretation einer einzelnen Serumcortisolkonzentration verzichtet werden sollte (PETERSON et al., 1982; GARNIER et al., 1990; PURNELL et al., 2004; LENNON et al., 2007; PETERSON, 2007, FLESERIU et al., 2016).

7.3.2. ACTH-stimulierte Cortisolkonzentrationen im Blut

Zwischen den ACTH-stimulierten Cortisolkonzentrationen im Blutserum der Kühe fanden sich signifikante Unterschiede. Die Gruppe 2 (gesunde Schlachtkühe) wies signifikant niedrigere ACTH-stimulierte Cortisolkonzentrationen als die Gruppe 3A (kranke Kühe ohne Glukokortikoidvorbehandlung) auf. Eine mögliche Erklärung lieferten SMITH und DOBSON (2002) und BERTONI et al. (2005): Sie beschrieben eine Hyperreaktivität der Nebennieren nach chronischem Stress, was bei der Gruppe 3 vermutlich krankheitsbedingt gegeben war. Die Beobachtung, dass die Gruppe 3B keine signifikant höhere Cortisolkonzentrationen aufwies, kann vermutlich mit der vorangegangenen Glukokortikoidgabe erklärt werden. Eine solche kann eine

Suppression der Nebennierenrinde verursachen und auf diese Weise zu einer verringerten Cortisolausschüttung führen (GRABER et al., 1965; HENZEN et al., 2000).

7.3.3. ACTH-Antwort bei gesunden und kranken Kühen

Werden die absoluten Anstiege der Serumcortisolkonzentrationen betrachtet, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen. Anders verhält es sich mit den prozentualen Anstiegen der Cortisolkonzentrationen im Blutserum. Hier wurden bei der Gruppe 2 signifikant höhere Anstiege als bei der Gruppe 3A festgestellt (1733 vs. 493 %). Verschiedene Autoren (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005; VAN REENEN et al., 2013; FIEGUTH, 2014) beschrieben, dass die ACTH-stimulierte Cortisolantwort sehr individuell ist. Bei ruhigen Kühen waren die basalen Serumbasalcortisolkonzentrationen signifikant niedriger als bei temperamentvollen (CURLEY et al., 2008). Die numerische Differenz zwischen der ACTH-stimulierten und der basalen Cortisolkonzentration war bei den ruhigen Kühen tendenziell, aber nicht signifikant höher als bei den temperamentvollen. Relativ ausgedrückt war der Cortisolpeak im Vergleich zu den Basalwerten bei den ruhigen Kühen 15- und bei den temperamentvollen 4-mal so hoch (CURLEY et al., 2008). Auch VAN REENEN et al. (2013) beobachteten bei ängstlichen Tieren bei neuen Umgebungsstimuli höhere Cortisolkonzentrationen im Blut. Ähnlich könnte es sich bei der vorliegenden Studie zwischen den Gruppen 2 und 3A verhalten haben. CURLEY et al. (2008) vermuteten, dass die temperamentvolleren Tiere aufgrund ihres Charakters unter chronischem Stress standen und damit eine konstant höhere Nebennierenaktivität aufwiesen als die ruhigeren Kühe. In dieser Studie konnte der Tiercharakter nicht beurteilt werden; jedoch kann wegen der Krankheiten bei den Tieren der Gruppe 3 von einem länger andauernden Stress ausgegangen werden.

DUNLAP et al. (1990) stellten bei säugenden Kühen im Vergleich zu nicht säugenden nach ACTH-Verabreichung eine verminderte Cortisolantwort fest. Die Autoren vermuteten, dass es aufgrund der regelmässigen Stimulation durch endogenes ACTH, welches beim Säugen ausgeschüttet wird, zu einer reduzierten Sensitivität der Nebennieren kam (DUNLAP et al., 1990). Möglicherweise verhielt es sich bei den sehr unterschiedlichen relativen Anstiegen zwischen der Gruppe 2 und 3A ähnlich. So könnte die reduzierte Sensitivität der Nebennieren der Gruppe 3A durch den vorangegangenen Stress der Krankheit ausgelöst worden sein.

SCHEIDEGGER et al. (2017) hingegen konnten bei Pferden mit mittelgradig schweren Magenulzera in der Pars glandularis einen höheren Serumcortisolanstieg nach ACTH-Verabreichung finden als bei solchen mit nur milden. Die Autoren gingen von einer erhöhten Sensitivität der Nebennieren aufgrund der vorhandenen Stresshormone durch die tieferen Ulzera aus. Keinen Einfluss auf die ACTH-stimulierte Cortisolkonzentration schienen dagegen Magenulzera in

der Pars cutanea zu haben (SCHEIDEGGER et al., 2017). Möglicherweise ist die De-/Sensibilisierung der Nebennieren krankheitsspezifisch.

In zwei Studien wurde gezeigt, dass die Menge an appliziertem ACTH keinen Einfluss auf die Höhe des Cortisolanstiegs ausübte (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005), vermutlich lagen die ACTH-Dosierungen mit diesen Ergebnissen oberhalb der maximalen Stimulierbarkeit der Nebennieren (eigene Interpretation). Höhere ACTH-Dosen verursachten aber einen zeitlich längeren Anstieg der Serumcortisolkonzentration als niedrigere (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005). Die Zeit bis zur höchsten Serumcortisolkonzentration nach niedrigeren ACTH-Dosen im Vergleich zu höheren war kürzer (VERKERK et al., 1994; BERTONI et al., 2005). In der Untersuchung mit den temperamentvollen und ruhigen Kühen (CURLEY et al., 2008) kamen erstere signifikant schneller wieder auf ihre basalen Serumcortisolkonzentrationen zurück als letztere. Wird in der Studie von CURLEY et al. (2008) die Integration (Fläche unter der Kurve, Area under the Curve, AUC) der Serumcortisolkurve betrachtet, so weisen die temperamentvollen im Vergleich zu den ruhigeren Tieren eine gedämpfte Antwort auf das ACTH auf. In unserer Studie wurde die Serumkonzentration 30 Minuten nach der ACTH-Injektion bestimmt, weshalb über den Peak und den weiteren Verlauf der Serumcortisolkonzentrationen keine Aussagen getroffen werden können. Cortisolbestimmungen zu mehreren Zeitpunkten nach ACTH-Verabreichung wären interessant, um die AUC von gesunden und chronisch kranken Kühen zu vergleichen.

Beim Vergleich von angewöhnten und einen Tag vor dem ACTH-Test mit einem Venenkatheter versehenen Kühen mit nicht angewöhnten und an der Schwanzvene punktierten Kühen waren die Ergebnisse der ACTH-Stimulation nicht unterschiedlich (VERKERK et al., 1994). Aus diesem Grund wird in der vorliegenden Studie angenommen, dass die Ergebnisse der Gruppen gut miteinander verglichen werden können.

7.4. Nebennierengewichte bei gesunden und kranken Kühen

Die Mittelwerte der Nebennierengewichte der Gruppe 2 betragen rechts 14.73 und links 17.84 g. Bei den Durchschnittsgewichten in der Gruppe 3A fanden sich Werte von 19.16 bei den rechten und 21.21 g bei den linken Nebennieren und in der Gruppe 3B betragen die Mittelwerte der rechten Nebennieren 21.22 und der linken 24.95 g. Die Mittelwerte von 17.7 g bei den rechten und 19.8 g bei den linken Nebennieren, welche bei akut kranken Kühen gefunden wurden (BRAUN et al., 2017a), lagen somit zwischen den Werten dieser Studie.

Die Gruppe 3 wies rechts mit 19.55 g signifikant höhere Nebennierengewichte auf als die Gruppe 2 mit 14.73 g, was möglicherweise auf deren Aktivierung durch die Erkrankungen und

den daraus resultierenden Stress zurückzuführen war (TERIO et al., 2004). So wurde von TERIO et al. (2004) eine Vergrößerung der Nebennierenrinde unter chronischem Stress bei in Gefangenschaft gehaltenen Geparden beschrieben.

7.5. Cortisolkonzentration der linken Nebennierenrinde

Die Cortisolkonzentrationen der linken Nebennierenrinden unterschieden sich zwischen keiner der Gruppen signifikant. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von STIRNIMANN (2017), welcher bei akut und chronisch kranken Kühen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede feststellen konnte. Die Werte wiesen bei STIRNIMANN (2017) mit 0.02 kleinere Minimal- und mit 11.01 µg/g größere Maximalwerte auf als in dieser Studie, in welcher sie zwischen 0.10 und 6.19 µg/g lagen.

7.6. Morphometrie und Histologie der Nebennieren

7.6.1. Morphometrische Daten

Die Dicke der gesamten Rinde und der Zona fasciculata und reticularis unterschieden sich zwischen allen Gruppen signifikant. So wies die Gruppe 2 im Vergleich zu den Gruppen 3A und 3B bei beiden Parametern niedrigere Werte auf und die Werte der Gruppe 3A waren signifikant höher als diejenigen der Gruppe 3B. Eine mögliche Erklärung findet sich bei TERIO et al. (2004), welche bei chronischem Stress eine Vergrößerung der Nebennierenrinde beschrieben haben. Die Zona fasciculata ist die Produktionsstätte des Cortisols (LIEBICH, 2010). Der Befund der signifikant dünneren Schichten bei der Gruppe 3B kann evtl. mit der vorangegangenen Glukokortikoidverabreichung erklärt werden, da eine solche die Cortisolproduktion in den Nebennierenrinden unterdrückt (GRABER et al., 1965; HENZEN et al., 2000) und diese somit dünner werden (eigene Interpretation).

Für die bei der Gruppe 2 im Vergleich zur Gruppe 3A signifikant dünnere Zona glomerulosa, welche die Produktionsstätte der Mineralokortikoide ist (LIEBICH, 2010), wurde keine Erklärung gefunden.

Das Nebennierenmark der Gruppe 3A war signifikant dicker als dasjenige der Gruppe 3B. Im Nebennierenmark wird unter anderem Adrenalin produziert (LIEBICH, 2010). Durch die Phenyläthanolamin-N-methyl-Transferase, welche durch hohe Glukokortikoidkonzentrationen vermehrt aktiviert wird, entsteht aus dem Noradrenalin das Adrenalin (LIEBICH, 2010; MEINECKE, 2010). Es ist möglich, dass die Cortisolserumkonzentration der Gruppe 3A durch den krankheitsbedingten Stress dauerhaft erhöht war (eigene Interpretation). Dadurch könnte die

Phenyläthanolamin-N-methyl-Transferase aktiviert worden sein, was zur Vergrößerung des Markes geführt haben könnte.

7.6.2. Histologie der Nebennieren

Es wurden lediglich beim Vorhandensein von Lipofuszin statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden. So wies die Gruppe 2 im Vergleich zur Gruppe 3A signifikant öfters Lipofuszin in der Nebennierenrinde auf. Das Lipofuszin wird auch als Alterspigment bezeichnet (JUNQUEIRA, 2005). Da sich die Gruppen 2 und 3A altersmässig nicht signifikant unterschieden, kann die Signifikanz nicht mit einem Altersunterschied erklärt werden. CHENG et al. (1999) fanden bei mit ACTH behandelten Ratten weniger Lipofuszin in den Nebennierenrinden als bei den unbehandelten Kontrollen. Möglicherweise war die Gruppe 3A aufgrund des krankheitsbedingten Stresses unter stärkerem ACTH-Einfluss und wies daher signifikant weniger oft Lipofuszin auf.

7.7. Corticomedulläres Verhältnis

TERIO et al. (2004) stellten bei in Gefangenschaft gehaltenen Geparden ein grösseres corticomedulläres Verhältnis als bei freilebenden fest. In der vorliegenden Studie wurden in Bezug auf das corticomedulläre Verhältnis keine signifikanten Unterschiede gefunden. Das Gleiche traf für andere, an unserer Klinik durchgeführte Untersuchungen bei Rindern zu (STIRNIMANN, 2017; WIEST, 2018).

7.8. Schlussfolgerungen

Die signifikanten Unterschiede beim ACTH-Stimulationstest zwischen den Gruppen 2 und 3A lassen vermuten, dass sich die ACTH-stimulierte Antwort von gesunden und kranken Kühen unterscheiden. Da jedoch keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe 1 gesehen werden konnten, sind weitere Untersuchungen zu dieser Fragestellung angezeigt. Die fehlenden Unterschiede zur Gruppe 3B deuten darauf hin, dass eine maximal 1 Woche zurückliegende Glukokortikoidverabreichung eine gedämpfte Cortisolantwort auf das ACTH zur Folge haben kann. Auch zu dieser Fragestellung sind weitere Untersuchungen erforderlich, um eine definitive Antwort geben zu können.

8. LITERATURVERZEICHNIS

AGHA, A., J. W. TOMLINSON, P. M. CLARK, G. HOLDER and P. M. STEWART (2006): The long-term predictive accuracy of the short synacthen (Corticotropin) stimulation test for assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 43-47.

ALAM, M., M. HASANUZZAMAN, M. M. HASSAN, T. M. RAKIB, M. E. HOSSAIN, M. H. RASHID, M. A. SAYEED, L. B. PHILIPS and M. A. HOQUE (2018): Assessment of transport stress on cattle travelling a long distance (≈ 648 km), from Jessore (Indian border) to Chittagong, Bangladesh. *Vet. Rec. Open* 5: e000248.

ASHLEY, N. T., P. S. BARBOZA, B. J. MACBETH, D. M. JANZ, M. R. L. CATTET, R. K. BOOTH and S. K. WASSER (2011): Glucocorticosteroid concentrations in feces and hair of captive caribou and reindeer following adrenocorticotrophic hormone challenge. *Gen. Comp. Endocrinol.* 172, 382-391.

AUERNHAMMER, C. J. und M. REINCKE (2018): Funktionsdiagnostik in der Endokrinologie. *Internist* 59, 38-47.

BANCOS, I., S. HAHNER, J. TOMLINSON and W. ARLT (2015): Diagnosis and management of adrenal insufficiency. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 3, 216-226.

BAIER, F., T. GRANDIN, T. ENGLE and L. EDWARDS-CALLAWAY (2019): Evaluation of hair characteristics and animal age on the impact of hair cortisol concentration in feedlot steers. *Front. Vet. Sci.* 6: 323.

BAIER, F. S., T. GRANDIN, T. E. ENGLE, S. L. ARCHIBEQUE, J. J. WAGNER and L. N. EDWARDS-CALLAWAY (2020): Effects of liver abscess presence on stress-related physiological parameters associated with well-being in beef feedlot cattle. *Anim. Sci. J.* 36, 437-446.

BARTL, K., C. A. GÓMEZ, T. AUFDERMAUER, M. GARCIA, M. KREUZER, H. D. HESS and H. R. WETTSTEIN (2009): Effect of diet type on performance and metabolic traits of Peruvian local and introduced cow types kept at 200 and 3600 m of altitude. *Livest. Sci.* 122, 30-38.

BEHREND, E. N., R. J. KEMPPAINEN, T. P. CLARK, M. D. SALMAN and M. E. PETERSON (2002): Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs: a survey of internists and dermatologists. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 1643-1649.

BERTONI, G., E. TREVISI, R. LOMBARDELLI and L. CALAMARI (2005): The ACTH challenge test to evaluate the individual welfare condition. 56th Annual Meeting EAAP, Uppsala, Sweden, June 5th-8th, 2005.

BHANSALI, A., K. A. V. SUBRAHMANYAM, T. TALWAR and R. J. DASH (2001): Plasma cortisol response to 1 μ g adrenocorticotropin at 0800h & 1600 in healthy subjects. *Indian J. Med. Res.* 114, 173-176.

BINZ, T. M., U. BRAUN, M. R. BAUMGARTNER and T. KRAEMER (2016): Development of an LC-/MS/MS method for the determination of endogenous cortisol in hair using $^{13}\text{C}_3$ -labeled cortisol as surrogate analyte. *J. Chromatogr. B* 1033, 65-72.

BORNSTEIN, S. R., B. ALLOLIO, W. ARLT, A. BARTHEL, A. DON-WAUCHOPE, G. D. HAMMER, E. S. HUSEBY, D. P. MERKE, M. H. MURAD, C. A. STRATAKIS and D. J. TORPY (2016): Diagnosis and treatment of primary adrenal insufficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101, 364-389.

BRAUN, U. (2002): Entzündung grosser Venen. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Hrsg. G. Dirksen, H. D. Gründer, M. Stöber. Parey Buchverlag, Berlin, 191-194.

BRAUN, U., G. CLAVADETSCHER, M. R. BAUMGARTNER, B. RIOND and T. M. BINZ (2017a): Hair cortisol concentration and adrenal gland weight in healthy and ill cows. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 159, 493-495.

BRAUN, U., N. MICHEL, M. R. BAUMGARTNER, M. HÄSSIG and T. M. BINZ (2017b): Cortisol concentration of regrown hair and hair from a previous unshorn area in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 114, 412-415.

BRAUN, U., A. WIEST, T. LUTZ, B. RIOND, M. HILBE, M. R. BAUMGARTNER and T. M. BINZ (2019): Hair cortisol concentration in clinically healthy slaughter calves with and without chronic bronchopneumonic lesions. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 161, 639-647.

BRUCKMAIER, R. M., D. SCHAMS and J. W. BLUM (1993): Milk removal in familiar and unfamiliar surroundings: concentrations of oxytocin, prolactin, cortisol and β -endorphins. *J. Dairy Res.* 60, 449-456.

BURNETT, T. A., A. M. L. MADUREIRA, B. F. SILPER, A. NADALIN, A. TAHAMASBI, D. M. VEIRA and R. L. A. CERRI (2014): Short communication: Factors affecting hair cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 7685-7690.

BURNETT, T. A., A. M. L. MADUREIRA, B. F. SILPER, A. TAHAMASBI, A. NADALIN, D. M. VEIRA and R. L. A. CERRI (2015): Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 4414-4426.

CHENG, B., T. R. HORNICK, M. O. HASSAN, S. C. CHOU, S. ABRAHAM and J. KOWAL (1999): Effects of prolonged ACTH-stimulation on adrenocortical accumulation of lipofuscin granules in aged rats. *Tissue & Cell* 31, 594-604.

CHO, H. Y., J. H. KIM, S. W. KIM, C. S. SHIN, K. S. PARK, S. W. KIM, H. C. JANG and S. Y. KIM (2014): Different cut-off values of the insulin tolerance test, the high-dose short Synacthen test (250 μg) and the low-dose short Synacthen test (1 μg) in assessing central adrenal insufficiency. *J. Clin. Endocrinol.* 81, 77-84.

CLAVADETSCHER, G. (2016): Vergleich der Cortisolkonzentrationen im Haar mit den Nebennierengewichten bei Kühen. Masterthesis, Universität Zürich.

CLINIPHARM (2020): CliniPharm, Wirkstoffdaten
(https://www.vetpharm.uzh.ch/wir/00000005/3190_04.htm).

COHEN, T. A. and E. C. FELDMANN (2012): Comparison of iv and im formulations of synthetic ACTH for ACTH stimulation tests in healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 412-414.

COMIN, A., A. PRANDI, T. PERIC, M. CORAZZIN, S. DOVIER and S. BOVOLENTA (2011): Hair cortisol levels in dairy cows from winter housing to summer highland grazing. *Livest. Sci.* 138, 69-73.

COMIN, A., T. PERIC, M. MONTILLO, M. FAUSTINI, V. ZUFFERLI, C. CAPPA, G. CORNACCHIA and A. PRANDI (2012): Hair cortisol levels to monitor hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in healthy dairy cows. *J. Anim. Vet. Adv.* 11, 3623-3626.

COMIN, A., T. PERIC, M. CORAZZIN, M. C. VERONESI, T. MELONI, V. ZUFFERLI, G. CORNACCHIA and A. PRANDI (2013): Hair cortisol as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in Friesian dairy cows clinically or physiologically compromised. *Livest. Sci.* 152, 36-41.

CURLEY, K. O. JR., D. A. NEUENDORFF, A. W. LEWIS, J. J. CLEERE, T. H. WELSH and R. D. RANDEL (2008): Functional characteristics of the bovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament. *Horm. Behav.* 53, 20-27.

DAVENPORT, M. D., S. TIEFENBACHER, C. K. LUTZ, M. A. NOVAK and J. S. MEYER (2006): Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 255-261.

DOLL, K., D. SCHILLINGER, W. KLEE (1985): Der Glutaraldehyd-Test beim Rind – seine Brauchbarkeit für Prognose und Diagnose innerer Entzündungen. *Zbl. Vet. Med. A.* 32, 581-593.

DORIN, R. I., C. R. QUALLS and L. M. CRAPO (2014): Diagnosis of adrenal insufficiency. *Ann. Intern. Med.* 139, 194-204.

DUNLAP, S. E., T. E. KISER, N. M. COX, F. N. THOMPSON, G. B. RAMPACEK, L. L. BENYSHEK and R. R. KRAELING (1990): Cortisol and luteinizing hormone after adrenocorticotropic hormone administration to postpartum beef cows. *Anim. Sci. J.* 52, 587-593.

FELDMANN, E. C. and R. W. NELSON (1996): The adrenal gland. In: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Eds. E. Feldmann and R. Nelson, 2nd edn., Saunders, Philadelphia, 266-306.

FIEGUTH, L. H. (2014): Untersuchung zur Stressantwort bei Milchkühen anhand eines ACTH Stimulationstests und der Evaluierung der Herzratenvariabilität. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

FINDLING, J. W. and H. RAFF (2017): Differentiation of pathologic/neoplastic hypercortisolism (Cushing's syndrome) from physiologic/non-neoplastic hypercortisolism (formerly known as pseudo-Cushing's syndrome). *Eur. J. Endocrinol.* 176, 205-216.

FLESERIU, M., I. A. HASHIM, N. KARAVITAKI, S. MELMED, M. H. MURAD, R. SALVATORI and M. H. SAMUELS (2016): Hormonal replacement in hypopituitarism in adults: an endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101, 3888-3921.

FOWLER, K. M., L. A. FRANK, F. MORANDI and J. C. WHITTEMORE (2017): Extended low-dose dexamethasone suppression test for diagnosis of atypical Cushing's syndrome in dogs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 60, 25-30.

FRANDBSEN, J. C. (1987): Parasites as stressors: Plasma cortisol responses of goats infected with the stomach worm *Haemonchus contortus* to exogenous corticotropin (ACTH). *Vet. Parasitol.* 23, 43-49.

GALAC, S., H. S. KOOISTRA, G. VOORHOUT, T. S. G. A. M. VAN DEN INGH, J. A. MOL, G. VAN DEN BERG and B. P. MEIJ (2005): Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. *Domest. Anim. Endocrinol.* 28, 338-348.

GALAC, S., V. J. KARS, G. VOORHOUT, J. A. MOL and H. S. KOOISTRA (2008): ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: A case report. *Vet. J.* 177, 141-143.

GARNIER, F., E. BENOIT, M. VIRAT, R. OCHOA and P. DELATOUR (1990): Adrenal cortical response in clinically normal dogs before and after adaption to housing environment. *Lab. Anim.* 24, 40-43.

GILOR, C. and T. K. GRAVES (2011): Interpretation of laboratory test for canine Cushing's syndrome. *Top. Companion Anim. Med.* 26, 98-108.

GONZÁLEZ-DE-LA-VARA, M. R., R. A. VALDEZ, V. LEMUS-RAMIREZ, J. C. VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, A. VILLA-GODOY and M. C. ROMANO (2011): Effects of adrenocorticotrophic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle. *Can. J. Vet. Res.* 75, 216-221.

GRABER, A. L., R. L. NEY, W. E. NICHOLSON, D. P. ISLAND and W. LIDDLE (1965): Natural history of pituitary-adrenal recovery following long-term suppression with corticosteroids. *J. Clin. Endocrinol.* 25, 11-16.

GWAZDAUSKAS, F. C., W. W. THATCHER and C. J. WILCOX (1972): Adrenocorticotropin alteration of bovine peripheral plasma concentrations of cortisol, corticosterone, and progesterone. *J. Dairy Sci.* 55, 1165-1169.

HASEGAWA, N., A. NISHIWAKI, K. SUGAWARA and I. ITO (1997): The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 51, 15-27.

HEIMBÜRGE, S., E. KANITZ, A. TUCHSCHERER and W. OTTEN (2020): Within a hair's breadth – Factors influencing hair cortisol levels in pigs and cattle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 288: 113359.

HENZEN, C., A. SUTER, E. LERCH, R. URBINELLI, X. H. SCHORNO and V. A. BRINER (2000). Suppression and recovery of adrenal response after short-term, high-dose glucocorticoid treatment. *Lancet* 355, 542-545.

HERD, R. M. (1989): Serum cortisol and "stress" in cattle. *Aust. Vet. J.* 66, 341-342.

HODGSON, P. D., P. AICH, A. MABUJA, K. HOKAMP, F. M. ROCHE, F. S. BRINKMANN, A. POTTER, L. A. BABIUK and P. J. GRIEBEL (2005): Effect of stress on viral-bacterial synergy in bovine respiratory disease: novel mechanisms to regulate inflammation. *Comp. Funct. Genom.* 6, 244-250.

HOFFMANN, B., D. SCHAMS, T. GIMÉNEZ, M. L. ENDER, C. HERRMANN and H. KARG (1973): Changes of progesterone, total oestrogens, corticosteroids, prolactin and LH in bovine peripheral plasma around parturition with special reference to the effect of exogenous corticoids and a prolactin inhibitor respectively. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 73, 385-395.

HOWES, J. R., J. F. HENTGES and A. C. WARNICK (1960): Adrenal gland weights of Hereford and Brahman cattle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104, 322-324.

ITO, N., T. ITO, A. KROMMINGA, A. BETTERMANN, M. TAKIGAWA, F. KEES, R. J. STRAUB and R. PAUS (2005): Human hair follicles display a functional equivalent of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and synthesize cortisol. *FASEB J.* 19, 1332-1359.

JUNQUEIRA, C. (2005): Muskelgewebe. In: *Histologie*. Hrsg. M. Gratzl, 6. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg, 145-162.

JURKOVICH, V., M. BAKONY, E. LAKY, F. RUFF, F. L. KÉZÉR, A. BENDE and L. KOVÁCS (2020): Cardiac vagal tone, plasma cortisol, and dehydroepiandrosterone response to an ACTH challenge in lame and nonlame dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 71, 1-12.

KAPLAN, A. J., M. E. PETERSON and R. J. KEMPPAINEN (1995): Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207, 445-451.

KERL, M. E., M. E. PETERSON, M. S. WALLACE, C. MELIÁN and R. J. KEMPPAINEN (1999): Evaluation of a low-dose synthetic adrenocorticotrophic hormone stimulation test in clinically normal dogs and dogs with naturally developing hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 1498-1501.

KINTZER, P. P. and M. E. PETERSON (2006): Diseases of the adrenal gland. In: *Saunders Manual of Small Animal Practice*. Eds. S. J. Birchhard and R. G. Sherding. Elsevier, Amsterdam, 357-375.

KOOISTRA, H. S. and S. GALAC (2010): Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 40, 259-267.

KUNTZ, R. K., C. M. GRIFFITHS, J. M. RANKIN, C. W. ARMSTRONG and T. J. McLOUGHLIN (2006): Cortisol concentration in human skeletal muscle tissue after photopheresis with 10 % hydrocortisone gel. *J. Athl. Train.* 41, 321-324.

- LATHAN, P., G. E. MOORE, S. ZAMBON and J. C. SCOTT-MONCRIEFF (2008): Use of a low-dose ACTH stimulation test for diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. *J. Vet. Med.* 22, 1070-1073.
- LENNON, E. M., T. E. BOYLE, R. G. HUTCHINS, A. FRIEDENTHAL, M. T. CORREA, S. A. BISSET, L. S. MOSES, M. G. PAPICH and A. J. BIRKENHEUER (2007): Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs: 123 cases (2000-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231, 413-416.
- LIEBICH, H.-G. (2010): Nebenniere. In: *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel*, 5. Auflage, Hrsg. H.-G. Liebich. Schattauer Verlag, Stuttgart, 183-187.
- LINDHOLM, J. (2015): Problems in interpretation of the short ACTH Test: an update and historical notes. *Clin. Diabetes Endocrinol.* 123, 441-445.
- MACBETH, B. J., M. R. L. CATTET, G. B. STENHOUSE, M. L. GIBEAU and D. M. JANZ (2010): Hair cortisol concentration as a noninvasive measure of long-term stress in free-ranging grizzly bears (*Ursus arctos*): considerations with implications for other wildlife. *Can. J. Zool.* 88, 935-949.
- MACCARI, S., P.V. PIAZZA, M. KABBAJ, A. BARBAZANGES, H. SIMON and M. LE MOAL (1995): Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *J. Neurosci.* 15, 110-116.
- MACCARI, S. and S. MORLEY-FLETCHER (2007): Effects of prenatal restraint stress on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and related behavioural and neurobiological alterations. *Psychoneuroendocrinology* 32, 10-15.
- MEANEY, M. J., M. SZYF and J. R. SECKL (2007): Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends Mol. Med.* 7, 269-277.
- MEINECKE, B. (2010): Endokrinologie. In: *Physiologie der Haustiere*, Hrsg. W. v. Engelhardt, Enke Verlag, Stuttgart, 508-534.
- MICHEL, N. (2016): Cortisolbestimmung im Haar von Kühen im Verlauf eines Jahres. Masterthesis, Universität Zürich.
- MÖSTL, E. and R. PALME (2002): Hormones as indicators of stress. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 67-74.
- MOYA, D., K. S. SCHWARTZKOPF-GENSWEIN and D. M. VEIRA (2013): Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle. *Livest. Sci.* 158, 138-144.
- NAKAO, T. and E. GRUNERT (1990): Effects of dystocia on postpartum adrenocortical function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 2801-2806.

- NEGRÃO, J. A., M. A. PORCIONATO, A. M. DE PASSILLÉ and J. RUSHEN (2004): Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking. *J. Dairy Sci.* 87, 1713-1718.
- NEJAD, J. G., B.-H. LEE, J.-Y. KIM, B.-W. KIM, B. CHEMERE, K. H. PARK and K.-I. SUNG (2019a): Comparing hair cortisol concentrations from various bodysites and serum cortisol in Holstein lactating cows and heifers during thermal comfort zone. *J. Vet. Behav.* 30, 92-95.
- NEJAD, J. G., K.-H. PARK, F. FORGHANI, H.-G. LEE, J.-S. LEE and K.-I. SUNG (2019b): Measuring hair and blood cortisol in sheep and dairy cattle using RIA and ELISA assay: a comparison. *Biol. Rhythm Res.* 51, 929-1016.
- OSPINA, N. S., A. A. NOFAL, I. BANCOS, A. JAVED, K. BENKHADRA, E. KAPOOR, A. N. LTEIF, N. NATT and M. H. MURAD (2015): ACTH stimulation test for the diagnosis of adrenal insufficiency: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101, 427-434.
- PERIC, T., A. COMIN, M. CORAZZIN, M. MONTILLO, A. CAPPÀ, G. CAMPANILE and A. PRANDI (2013): Short communication: Hair cortisol concentrations in Holstein Friesian and crossbreed F₁ heifers. *J. Dairy Sci.* 96, 3023-3027.
- PETERSON, M. E., S. R. GILBERTSON and W. D. DRUCKER (1982): Plasma cortisol response to exogenous ACTH in 22 dogs with hyperadrenocorticism caused by adrenocortical neoplasia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 542-544.
- PETERSON, M. E. (2007): Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 22, 2-11.
- PETHERICK, J. C., V. J. DOOGAN, B. K. VENUS, R. G. HOLROYD and P. OLSSON (2009): Quality of handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: 2. Consequences for stress and productivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 120, 28-38.
- PURNELL, J. Q., D. D. BRANDON, L. M. ISABELLE, D. L. LORIAUX and M. H. SAMUELS (2004): Association of 24-hour cortisol production rates, cortisol-binding globulin, and plasma-free cortisol levels with body composition, leptin levels, and aging in adult men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 281-287.
- RUSHEN, J., A. BOISSY, E. M. C. TERLOUW and A. M. B. DE PASSILLÉ (1999): Opioid peptides and behavioral and physiological responses of dairy cows to social isolation in unfamiliar surroundings. *J. Anim. Sci.* 77, 2918-2924.
- RUSHEN, J., L. MUNKSGAARD, P. G. MARNET and A. M. DEPASSILLÉ (2001): Human contact and the effect of acute stress on cows at milking. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 73, 1-14.
- SCHEIDEGGER, M. D., V. GERBER, R. M. BRUCKMAIER, J. H. VAN DER KOLK, D. BURGER and A. RAMSEYER (2017): Increased adrenocortical response to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in sport horses with equine glandular gastric disease (EGGD). *Vet. J.* 228, 7-12.

SHARMA, A., G. UMAPATHY, V. KUMAR and C. J. C. PHILLIPS (2019): Hair cortisol in sheltered cows and its association with other welfare indicators. *Animals* 248, 1-27.

SMITH, R. F. and H. DOBSON (2002): Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 75-85.

STALDER, T. and C. KIRSCHBAUM (2012): Analysis of cortisol in hair – state of the art and future directions. *Brain Behav. Immun.* 26, 1019-1029.

STIRNIMANN, M. (2017): Untersuchung der Nebennieren von Schlachtkühen mit verschiedenen Erkrankungen. Masterthesis, Universität Zürich.

TALLO-PARRA, O., X. MANTECA, M. SABES-ALSIRA, A. CARBAJAL and M. LOPEZ-BEJAR (2015): Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA: protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites. *Animal* 96, 1059-1064.

TALLO-PARRA, O., M. LOPEZ-BEJAR, A. CARBAJAL, L. MONCLÚS, X. MANTECA and M. DEVANT (2017): Acute ACTH-induced elevation of circulating cortisol do not affect hair cortisol concentrations in calves. *Gen. Comp. Endocrinol.* 240, 138-142.

TERIO, K. A., L. MARKER and L. MUNSON (2004): Evidence for chronic stress in captive but not free ranging cheetahs (*acinonyx jubatus*) based on adrenal morphology and function. *J. Wildl. Dis.* 40, 259-266.

TERWISSEN, C. V., G. F. MASTROMONACO and D. L. MURRAY (2013): Influence of adrenocorticotrophin hormone challenge and external factors (age, sex, and body region) on hair cortisol concentration in Canada lynx (*Lynx canadensis*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 194, 162-167.

VAN LANEN, K. and A. SANDE (2014): Canine hypoadrenocorticism: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Top. Companion Anim. Med.* 29, 88-95.

VAN REENEN, C. G., J. T. N. VAN DER WERF, N. E. O'CONNELL, L. F. M. HEUTINCK, H. A. M. SPOOLDER, R. B. JONES, J. M. KOOLHAAS and H. J. BLOKHUIS (2013): Behavioural and physiological response of heifer calves to acute stressors: Long-term consistency and relationship with adult reactivity to milking. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 147, 55-68.

VAN WAES, V., M. ENACHE, I. DUTRIEZ, J. LESAGE, S. MORLEY-FLETCHER, E. VINNER, M. LHERMITTE, D. VIEAU, S. MACCARI and M. DARNAUDÉRY (2006): Hypo-response of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis after an ethanol challenge in prenatally stressed adolescent male rats. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1193-1200.

VENKATASESHU, G. K. and V. L. ESTERGREEN (1970): Cortisol and corticosterone in bovine plasma and the effect of adrenocorticotropin. *J. Dairy Sci.* 53, 480-483.

VERKERK, G. A., K. L. MACMILLAN and L. M. MCLEAY (1994): Adrenal cortex response to adrenocorticotrophic hormone in dairy cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 11, 115-123.

WATSON, A. D. J., D. B. CHURCH, D. R. EMSLIE and S. F. FOSTER (1998): Plasma cortisol responses to three corticotrophic preparations in normal dogs. *Aust. Vet. J.* 76, 255-257.

WEST, J. W. (2003): Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 2131-2144.

WIEST, A. M. R. (2018): Haarcortisolkonzentrationen bei Kälbern verschiedener Produktionslabels und bei solchen mit und ohne Bronchopneumonie. Dissertation, Universität Zürich.

9. ANHANG

Glutaraldehydtest, Haarcortisolkonzentrationen, Serumcortisolkonzentrationen initial und 30 Minuten nach ACTH-Injektion, absoluter und relativer Cortisolanstieg bei 10 gesunden Kühen des AgroVet-Strickhofs (Gruppe 1), 10 gesunden Schlachtkühen (Gruppe 2) und 41 kranken Kühen (Gruppe 3A und 3B)

Gruppe / Nr.	Interne Nr.	Gesundheitszustand/Krankheit	Glutaraldehydtest (Min.)	Haarcortisol (pg/mg)	Serumcortisol 0 Min. (µg/dl)	Serumcortisol 30 Min. (µg/dl)	Cortisolanstieg absolut (µg/dl)	Cortisolanstieg in %
1.1	2316114	Gesund	> 10	0.7	0.4	5.5	5.1	1275
1.2	2316115	Gesund	> 10	0.9	0.9	5.8	4.9	566
1.3	2316116	Gesund	> 10	1.8	< 0.2	7.7	7.6	7600
1.4	2316117	Gesund	> 10	0.5	1.4	7.9	6.5	464
1.5	2316118	Gesund	> 10	1.1	1.8	7.3	5.5	306
1.6	2316119	Gesund	> 10	1.0	0.6	5.6	5.0	833
1.7	2316121	Gesund	> 10	1.2	0.5	6.0	5.5	1100
1.8	2316122	Gesund	> 10	2.0	0.6	6.5	5.9	983
1.9	2316123	Gesund	> 10	2.0	0.8	8.1	7.3	913
1.10	2316124	Gesund	> 10	< LOQ *	0.4	8.0	7.6	1900
2.1	2247186	Gesund	3	0.9	0.5	4.2	3.7	740
2.2	2247185	Gesund	2.5	< LOQ *	0.5	7.0	6.5	1300
2.3	2248313	Gesund	> 10	0.5	< 0.2	6.3	6.2	6200

Fortsetzung Anhang

Gruppe / Nr.	Interne Nr	Gesundheitszustand/Krankheit	Glutaraldehydtest (Min.)	Haarcortisol (pg/mg)	Serumcortisol 0 Min. (µg/dl)	Serumcortisol 30 Min. (µg/dl)	Cortisolanstieg absolut (µg/dl)	Cortisolanstieg in %
2.4	2248314	Gesund	5	1.2	0.3	5.0	4.7	1567
2.5	2248315	Gesund	> 10	1.1	0.3	5.5	5.2	1733
2.6	2248516	Gesund	> 10	0.8	1.9	5.8	3.9	205
2.7	2248517	Gesund	7	2.3	0.7	4.4	3.7	529
2.8	2171995	Gesund	> 10	1.5	0.3	5.5	5.2	1733
2.9	2312611	Gesund	> 10	1.1	< 0.2	4.5	4.4	4400
2.10	2312950	Gesund	> 10	1.5	< 0.2	6.6	6.5	6500
3.1A	2245369	Peritonitis, Labmagenulzera	4	< LOQ *	1.9	7.4	5.5	289
3.2A	2245506	Peritonitis um Haube	1	2.3	0.2	3.7	3.5	1750
3.3A	2245455	Peritonitis nach Kaiserschnitt	> 10	1.1	3.2	10.3	7.1	222
3.4A	2246370	Skelettmuskeldegeneration (M. quadriceps), Labmagenulzera, Mastitis	> 10	1.9	1.7	11.6	9.9	582
3.5A	2247061	Septische Osteitis und Osteoarthritis des Klauenbeins bzw. des distalen Interphalangealgelenks	> 10	1.2	0.8	8.7	7.9	988

Fortsetzung Anhang

Gruppe / Nr.	Interne Nr.	Gesundheitszustand/Krankheit	Glutaraldehydtest (Min.)	Haarcortisol (pg/mg)	Serumcortisol 0 Min. (µg/dl)	Serumcortisol 30 Min. (µg/dl)	Cortisolanstieg absolut (µg/dl)	Cortisolanstieg in %
3.6A	2247279	Eitrige Doppelsohle, eitrig hohle Wand Aussenklaue hinten links mit fibrinös-eitriger Arthritis und Tendovaginitis der lateralen Fesselbeugesehnscheide	3	3.9	2.4	6.4	4	167
3.7A	2248793	Peritonitis, Hoflund, Abomasitis, Rehe	7	1.8	0.3	5.0	4.7	1567
3.8A	2248917	Peritonitis, Labmagenulzera	> 10	1.3	0.3	5.9	5.6	1867
3.9A	2249336	Peritonitis, ulzerierende Abomasitis	4	0.8	2.2	9.4	7.2	327
3.10A	2249475	Peritonitis, Ursache unbekannt	> 10	1.4	0.6	5.0	4.4	733
3.11A	2249810	Aspirationspneumonie, parasitär bedingte chronische Abomasitis	> 10	1.0	1.5	8.9	7.4	493
3.12A	2250182	Peritonitis, Leberabszesse, Ursache unbekannt	3.5	1.0	1.6	8.7	7.1	444
3.13A	2239970	Peritonitis, Abszess in Pansenwand	> 10	1.0	6.8	6.8	0	0
3.14A	2250605	Peritonitis, Abomasitis	3	0.6	1.6	7.0	5.4	338
3.15A	2250800	Reticuloperitonitis traumatica	> 10	0.5	1.5	5.7	4.2	280
3.16A	2250717	Ruptur des M. extensor digitorum longus	> 10	1.0	0.9	8.3	7.4	822
3.17A	2251236	Endocarditis valvularis, Pneumonie	2	2.8	1.3	8.0	6.7	615

Fortsetzung Anhang

Gruppe / Nr.	Interne Nr.	Gesundheitszustand/Krankheit	Glutaraldehydtest (Min.)	Haarcortisol (pg/mg)	Serumcortisol 0 Min. (µg/dl)	Serumcortisol 30 Min. (µg/dl)	Cortisolanstieg absolut (µg/dl)	Cortisolanstieg in %
3.18A	2251242	Szirrhöses Karzinom in Bauch- und Brusthöhle sowie Perikard	> 10	0.5	1.4	7.7	6.3	450
3.19A	2251340	Pyothorax, Pleuritis	2	0.6	0.9	10.2	9.3	1033
3.20A	2251581	Labmagenulkus Typ 4, Peritonitis	3	1.4	1.2	5.2	4	333
3.21A	2252524	Labmagenulkus Typ 4, Peritonitis	-	1.6	13.6	15.4	1.8	13
3.22A	2253984	Reticuloperitonitis traumatica, Pericarditis, Lungenblutung	-	< LOQ	2.0	11.8	9.8	490
3.23A	2254506	Fraktur des Ala ossis ilii, Osteomyelitis Tuber coxae des Os ilium	1	< LOQ	0.4	6.0	5.6	1400
3.24A	2254717	Enteritis, Peritonitis, hepatische Lipidose	> 10	0.6	4.4	5.9	1.5	34
3.25A	2255111	Überladung Pansen und Haube	4	0.7	0.6	4.6	4	667
3.26A	2255245	Eitrige Otitis media	5	0.5	0.3	5.5	5.2	1733
3.27A	2255721	Reticuloperitonitis traumatica	1	0.9	0.5	6.2	5.7	1140
3.28A	2238713	Panlobuläre Leberlipidose, Ikterus	> 10	1.0	4.1	12.5	8.4	205
3.29A	2256436	Pneumonie, Leberabszess	1	0.9	1.6	7.1	5.5	344
3.30A	2256687	Karzinom Unterkiefer	2	0.8	0.7	7.4	6.7	957
3.31A	22314422	Reticuloperitonitis traumatica	6	0.9	1.2	11.0	9.8	817

Fortsetzung Anhang

Gruppe / Nr.	Interne Nr.	Gesundheitszustand/Krankheit	Glutaraldehydtest (Min.)	Haarcortisol (pg/mg)	Serumcortisol 0 Min. (µg/dl)	Serumcortisol 30 Min. (µg/dl)	Cortisolanstieg absolut (µg/dl)	Cortisolanstieg in %
3.32B	2249868	Bösartiges Katarrhalfieber	> 10	< LOQ	3.8	6.9	3.1	82
3.33B	2249971	Bursitis omentalis, Labmagenulzera, Leberabszess	3.5	0.9	2.1	15.0	12.9	614
3.34B	2251513	T-Zell-Lymphom (Thymusleukose)	-	0.8	< 0.2	6.7	6.5	3250
3.35B	2252067	Peritonitis, Ursache unbekannt	-	1.1	0.8	4.5	3.7	427
3.36B	2254689	Klauenamputation	1.5	1.9	< 0.2	2.0	0.9	900
3.37B	2255168	Pneumonie, Abomasitis	0.5	1.4	< 0.2	5.8	5.7	5700
3.38B	2255388	Pneumonie, Thrombophlebitis, Bursitis carpalis, Labmagenulzera Typ 2	1	0.6	0.4	5.9	5.5	1375
3.39B	2312214	Vermutlich: Larynxperforation durch Kalziumbolus	9	0.7	1.1	7.3	6.2	564
3.40B	2313985	Labmagenulkus Typ 4, Peritonitis, Abomasitis, Tarsitis, Mastitis, Pleuraerguss, Myokardfibrose	10	0.8	0.8	3.4	2.6	325
3.41B	2314323	Labmagenulkus Typ 2, multipel, Meläna	10	1.1	2.1	3.3	1.2	57

* LOQ Limit of quantitation (untere Nachweisgrenze)

10. DANKSAGUNG

Ich möchte allen Personen, welche zur Anfertigung dieser Dissertation beigetragen haben, mein herzliches Dankeschön aussprechen:

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Ueli Braun für die Überlassung des Themas, die stets prompte und gute Betreuung, die vielen Inputs, die Korrekturen und für die Übernahme des Referats.

Herrn Prof. Dr. Thomas Lutz für die Übernahme des Korreferats.

Frau Dr. Monika Hilbe und den Laborantinnen des Instituts für Veterinärpathologie für die freundliche Betreuung bei der Herstellung der histologischen Schnitte und die Hilfe bei deren Beurteilung.

Herrn Prof. Dr. Franco Guscelli, Institut für Veterinärpathologie, für das Scannen und Übermitteln der digitalen Histologiebilder.

Herrn Dr. Markus Baumgartner, Frau PD Dr. Tina Binz und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Zentrums für Forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Zürich für die Analyse der Haarproben.

Frau Dr. Kerstin Linder, Institut für Veterinärphysiologie Zürich, für die Cortisolextraktion aus den Nebennierenrinden.

Frau Dr. Barbara Riond und den Laborantinnen des Veterinärmedizinischen Labors für die Bestimmung der Cortisolkonzentrationen in den Nebennierenrindenextrakten und den Rinderseren sowie die fachkundige Beratung.

Frau Daniela Keller für die sehr kompetente Beratung bei den statistischen Analysen und der Auswertung der Daten.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Veterinärpathologie für die Entnahme der Nebennieren im Sektionslokal.

Herrn Paul Müller, Herrn Harald Gabriel und Herrn Vincenz Burger für das Entnehmen der Nebennieren bei den Schlachtungen der Kühe.

Herrn Dr. Joël Bérard, Herrn Andreas Simonett und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des AgroVet-Strickhofs Lindau für die Bereitstellung der Kühe und die grosse Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

All meinen Freunden und Kollegen, welche mich in der Zeit des Schreibens immer wieder neu motiviert und unterstützt haben.

Meinem Bruder Christoph Dätwyler, welcher mir bei technischen Fragen und grossen Hürden mit den Computerprogrammen mit hilfreichen Tipps, geduldigem Erklären und motivierenden Worten immer treu zur Seite gestanden ist.

Meinen lieben Eltern Ulla und Bernhard Dätwyler, welche mich immer bestmöglichst mit all Ihrer Kraft unterstützten und in schwierigen Zeiten immer für mich da waren.

11. LEBENSLAUF

Name: Andrea Silvana Dätwyler

Geburtsdatum: 14. Juni 1988

Geburtsort: Luzern, Schweiz

Nationalität: Schweiz

Heimatort: Unterentfelden

08.1995 – 07.2005
Grundschole in Villnachern, Veltheim und Schinznach-Dorf, Schweiz

08.2005 – 07.2009
07.2009
Gymnasium, Alte Kantonsschule Aarau
Matura, Alte Kantonsschule Aarau

08.2009 – 01.2016
01.2016
02.2016 – 2021
Studium der Veterinärmedizin, Universität Zürich
Eidgenössisches Staatsexamen
Anfertigung der Dissertation
unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. h. c. med. vet. U. Braun
am Departement für Nutztiere
der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich
Vorsteher: Prof. Dr. med. vet. Christian Gerspach

02.2016 – 06.2018
Assistentztierärztin in der Klinik für Wiederkäuer des Departements für Nutztiere, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Schweiz

07.2018 – 07.2020
Assistentztierärztin in der Kleintierpraxis am Homberg, Wangen bei Olten, Schweiz

08.2020 – heute
Assistentztierärztin in der Gross- und Kleintierpraxis Bucher AG, Rothrist, Schweiz.