

Aus dem Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf

---

**Fütterung von pansenstabilem Fett  
im letzten Trächtigkeitstrimester und dessen Auswirkung auf die  
Stoffwechsellage der Hochleistungsmilchkuh in der Frühlaktation**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Dipl.- Ing. agr. Kathrin Duske**

aus Bergen / Rügen

Kiel, 2012

Gedruckt mit Genehmigung der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät der  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Dekanin: Prof. Dr. Karin Schwarz

1. Berichterstatterin: PD Dr. habil. Cornelia C. Metges
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Siegfried Wolfram

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Mai 2012

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>	<b>1</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>3</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>5</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>6</b>
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
<b>2 WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Zusammenhang zwischen Leistung und Gesundheit im peripartalen Zeitraum.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2. Energiestatus und Lipidstoffwechsel.....</b>	<b>10</b>
2.2.1 Negative Energiebilanz und Fettmobilisierung.....	11
2.2.2 Leberverfettung, Ketose und Lipogenese.....	13
<b>2.3. Charakterisierung des Stoffwechsels im peripartalen Zeitraum .....</b>	<b>15</b>
2.3.1 $\beta$ -Hydroxybutyrat, freie Fettsäuren, Cholesterol und Leptin .....	15
2.3.2 Regulation des Glucosestoffwechsels und Gluconeogenese.....	17
2.3.3 Energiebilanz und Rückenfettdicke .....	20
<b>2.4. Futteraufnahme im peripartalen Zeitraum .....</b>	<b>21</b>
<b>2.5. Fütterung von Fett im peripartalen Zeitraum .....</b>	<b>23</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Tiermaterial und Haltung.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2. Fütterung.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Untersuchungsparameter .....</b>	<b>28</b>
3.3.1 Körpergewicht, Rückenfettdicke und Energiebilanz.....	30
3.3.2 Blutproben und Fett- und Leberbiopate .....	30
3.3.3 Milchleistung und Milchinhaltsstoffe .....	31
3.3.4 Insulin, Glucagon, Albumin, Bilirubin, Harnstoff und Laktat im Plasma .....	31
3.3.5 mRNA Konzentrationsdaten .....	32
<b>3.4. Statistische Auswertung .....</b>	<b>34</b>

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>35</b>
4.1	Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation	35
4.2	Weitere Ergebnisse	51
4.2.1	Hormone und Metabolite im Blut	51
4.2.1.1	Insulin, Glucagon und das Verhältnis von Glucagon zu Insulin	51
4.2.1.2	Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin	53
4.2.2	mRNA Konzentration in Leber- und Fettgewebe	56
4.2.2.1	Albumin	56
4.2.2.2	Fibrinogen	57
4.2.2.3	Uncoupling Protein 2	58
4.2.2.4	Adiponektinrezeptor 2	59
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>61</b>
5.1	Zootechnische Parameter	61
5.2	Milchleistung und Milchzusammensetzung	63
5.3	Metabolite und Hormone im Blut, Leberfett und -glykogen	65
5.4	mRNA Konzentration im Leber- und Fettgewebe	72
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>78</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>82</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>100</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>101</b>

# Abkürzungsverzeichnis

---

In der englischsprachigen Publikation als Teil der Arbeit sind die englischen Abkürzungen verwendet worden, wohingegen im deutschsprachigen Teil zur Erhaltung des Leseflusses für einige Begriffe eine deutsche Abkürzung gewählt worden ist.

ACC $\alpha$			Acetyl-Coenzym A Carboxylase $\alpha$
ACC $\alpha$ -P1/2			Acetyl-Coenzym A Carboxylase $\alpha$ Promotor 1/ 2
a.p.			ante partum
AR2			Adiponektinrezeptor 2
BFT	backfat thickness	RFD	Rückenfettdicke
BF <sub>3</sub>	boron trifluoride		Bortrifluorid
BHB	$\beta$ -hydroxybutyrate		$\beta$ -Hydroxybuttersäure
bp	base pair		Basenpaar
BW	body weight	KG	Körpergewicht
C	carbon		Kohlenstoff
cDNA	complementary desoxyribonucleic		komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CoA	coenzym A		Coenzym A
CP	crude protein		Rohprotein
CD	carbohydrate-based diet		Stärkediät
DIM	days in milk		Laktationstag
DM	dry matter	TS	Trockensubstanz
DMI	dry matter intake	TS-Aufnahme	Trockensubstanzaufnahme
EB	energy balance		Energiebilanz
ECM	energy-corrected milk		Energie-korrigierte Milchmenge
EDTA	ethylenediaminetetraacetate		Ethylendiamintetraessigsäure
EI	energy intake	EA	Energieaufnahme
FA	fatty acid	FS	Fettsäure
FAME	fatty acid methyl ester		Fettsäuremethylester
FD	fat-accentuated diet		Fett-betonte Diät
HDL	high density lipoprotein		Lipoprotein hoher Dichte
IGF	insulin-like growth factor		Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor
i.m.			intra muskulär
LCFA	long chain fatty acid		langkettige Fettsäure

## Abkürzungsverzeichnis

LD	lactation diet	Laktationsdiät
LDL	low density lipoprotein	Lipoprotein geringer Dichte
MeOH	methanol	Methanol
mRNA	messenger ribonucleic acid	Boten-Ribonukleinsäure
NEB	negative energy balance	Negative Energiebilanz
NEFA	non-esterified fatty acid	Freie Fettsäuren
NE <sub>L</sub>	net energy for lactation	Nettoenergie Laktation
PCR	polymerase chain reaction	Polymerase-Kettenreaktion
p.p.	postpartum	post partum
RNA	ribonucleic acid	Ribonukleinsäure
s.c.	subcutaneous	subkutan
SCC	somatic cell count	somatischer Zellgehalt
SEM	standard error of the mean	Standardfehler
TAG	triacylglycerol	Triacylglycerid
TMR	total mixed ration	Totale Mischration
UCP2		Uncoupling Protein 2
VLDL	very low density lipoprotein	Lipoprotein sehr geringer Dichte

# Abbildungsverzeichnis

---

Abb. 1: Zunahme der Milchproduktion (◆), Energiebedarf (▲), Entwicklung der Trockenmasseaufnahme (■) in der Zeit von 1980 bis 2003 (Eastridge, 2006).....	7
Abb. 2: Graphische Darstellung der Phasen im peripartalen Zeitraum. ....	9
Abb. 3: Zusammenhänge zwischen reduzierter Futteraufnahme und gesundheitlichen Problemen bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum (nach Goff, 2006). ....	10
Abb. 4: Bedarf an Energie und umsetzbarem Protein sowie den Mengen, die durch Futter aufgenommen und durch die Milchdrüse genutzt werden am 4. Laktationstag (Drackley, 1999). ....	12
Abb. 5: Die Carboxylierung von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA, als erster Schritt der Fettsäuresynthese. Biotin ist als prosthetische Gruppe an ACC $\alpha$ gebunden. Über die Bildung des Zwischenprodukts Carboxybiotin wird deren CO $_2$ -Gruppe auf Acetyl-CoA übertragen (Stryer, 1990). ....	14
Abb. 6: Konzentrationen (LSM $\pm$ SEM) von Insulin (A), Glucagon (B) sowie das Verhältnis zwischen Glucagon und Insulin (C) im Plasma von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 55. d a.p. und dem 95. d p.p. in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼). ....	52
Abb. 7: Konzentrationen (LSM $\pm$ SEM) von Albumin (A) und Harnstoff (B) im Plasma von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 55. d a.p. und dem 95. d p.p. in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).....	54
Abb. 8: Konzentrationen (LSM $\pm$ SEM) von Laktat (A) und Bilirubin (B) im Plasma von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 55. d a.p. und dem 95. d p.p. in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).....	55
Abb. 9: Verlauf der mRNA Konzentration von Albumin im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM $\pm$ SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼). ....	56
Abb. 10: Verlauf der mRNA Konzentration von Fibrinogen im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM $\pm$ SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼). ....	58
Abb. 11: Verlauf der mRNA Konzentration von UCP2 im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM $\pm$ SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼). ....	59
Abb. 12: Verlauf der mRNA Konzentration von AR2 im Lebergewebe von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM $\pm$ SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).....	60

# Tabellenverzeichnis

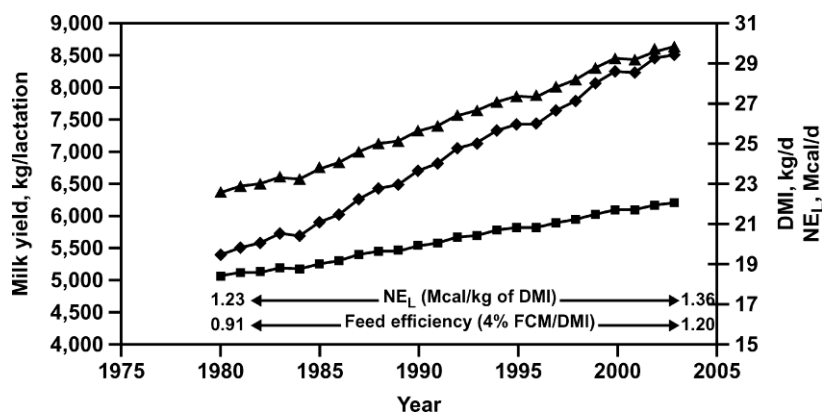
---

Tab. 1: Zusammensetzung der eingesetzten Futterrationen .....	27
Tab. 2: Untersuchungsparameter und -zeitpunkte .....	29
Tab. 3: Verwendete Kits zur Untersuchung von Hormonen und Metaboliten im Blut.....	32
Tab. 4: Verwendete Primer und Primer Sequenzen.....	33
Tab. 5: Fütterungs- und Zeiteffekte auf die Hormone Insulin und Glucagon im Plasma sowie das Verhältnis von Glucagon und Insulin vor und nach dem Kalben.....	53
Tab. 6: Fütterungs- und Zeiteffekte auf die Konzentrationen von Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin im Plasma von Hochleistungsmilchrindern vor und nach dem Kalben.....	55
Tab. 7: Fütterungs- und Zeiteffekte auf die mRNA Expression von Albumin, Fibrinogen, UCP2 sowie AR2 im Leber- und Fettgewebe von Hochleistungsmilchkühen .....	57



# 1 Einleitung

Während noch vor 100 Jahren die durchschnittlichen Leistungen von Milchrindern bei 2.000 kg Milch pro Tier und Jahr lagen, sind heute Herdendurchschnitte von mehr als 10.000 kg Milch pro Tier und Jahr keine Seltenheit mehr. Neben Zucht und Haltung ist die Fütterung und das Wissen um die physiologischen Vorgänge Grundlage dieser Entwicklung. Die Belastungen für den tierischen Organismus, die mit der Produktion solch großer Milchmengen im Zusammenhang stehen, sind beachtlich und können mit einer Reihe von gesundheitlichen Problemen einhergehen. Da Hochleistungskühe in der Frühlaktation nicht in der Lage sind, ihren Energiebedarf über die Futteraufnahme zu decken, setzt bereits kurz nach der Kalbung der Abbau von körpereigenen Fettreserven zur Energiegewinnung ein. In den letzten Jahren/Jahrzehnten ist die Milchleistung um etwa 2 % pro Jahr angestiegen. Abb. 1 zeigt neben dem Anstieg der Milchleistung auch die zeitgleiche Entwicklung der Trockensubstanzaufnahme (TS-Aufnahme).



**Abb. 1:** Zunahme der Milchproduktion (◆), Energiebedarf (▲), Entwicklung der Trockenmasseaufnahme (■) in der Zeit von 1980 bis 2003 (Eastridge, 2006).

Während der Energiebedarf angestiegen ist, konnte die TS-Aufnahme nicht im gleichen Maß folgen. Daher ist es notwendig, die Energiedichte des Futters zu steigern. In den USA stieg nach Angaben von Eastridge (2006) der Energiegehalt der Rationen um 10,6 % pro Kilogramm Trockensubstanz (TS) an. In Herden mit einer durchschnittlichen Herdenleistung von 12.500 kg Milch pro Laktation ist eine Energiedichte im Futter üblich, die um mehr als 30 % über dem Wert von 1980 liegt. Diese Werte verdeutlichen eindrucksvoll,

welch hohe Anforderungen an das Futter zu stellen sind. Mit steigenden Leistungen begann die Suche nach alternativen Rationskomponenten, die die Energiedichte erhöhen und dennoch Bestandteil einer wiederkäuergerechten Ration sein können. Der Supplementierung der Ration mit Fett kommt dabei eine wichtige Bedeutung zu. Sie ist in der Praxis weit verbreitet (Jordan und Fourdraine, 1993) und Gegenstand intensiver Forschung (Chilliard, 1993; Moallem et al., 1999, 2007a, 2007b; Ruppert et al., 2003; Drackley et al., 1992, 1998). Vorrangig wird Fett in den ersten Wochen der Laktation verabreicht, da in diesem Zeitraum das Ausmaß des Körperfettabbaus zur Energiegewinnung am größten ist. Zur Adaptation des Verdauungssystems ist es außerdem üblich, in den letzten Tagen der Trächtigkeit die Futterkomponenten, die in der Laktation verwendet werden, bereits in die Rationen einzufügen. Trotz solcher Maßnahmen ist das Energiedefizit und in dessen Folge das Problem der Fettmobilisierung und ihrer negativen Auswirkung auf den Organismus nicht beseitigt. Es stellt sich daher die Frage, ob eine längerfristige Fettfütterung bereits in der Hochträchtigkeit zu einer günstigeren Stoffwechsellage in der frühen Laktation führen kann.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den Effekten einer vergleichsweise langen Phase der Fettfütterung im letzten Trimester der Trächtigkeit auf den Stoffwechsel von Hochleistungsmilchkühen, im Hinblick auf eine ausreichende Energieversorgung, Leistungsparameter und Stoffwechselgesundheit. Insbesondere wurde untersucht, ob der Stoffwechsel der Tiere durch die längerfristige Fettfütterung besser auf die Verstoffwechslung von Fett eingestellt werden kann und diesen in der Phase der ausgeprägten negativen Energiebilanz weniger stark belastet.

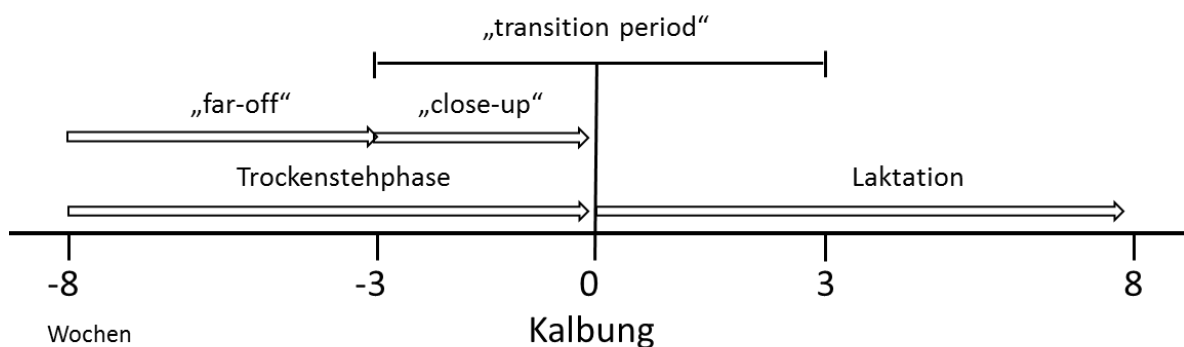
Ein Teil der in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse sind in einer im *Journal of Dairy Science* 2009 erschienenen Publikation bereits veröffentlicht worden. Diese ist Bestandteil der vorliegenden Arbeit, so dass Teile der Methodik und der Ergebnisse in der Publikation enthalten sind.

## 2 Wissenschaftlicher Hintergrund

---

### 2.1. Zusammenhang zwischen Leistung und Gesundheit im peripartalen Zeitraum

Als „transition period“ (Übergangsphase) wird meist der Zeitraum drei Wochen ante partum (a.p.) bis drei Wochen post partum (p.p.) angesehen (Grummer, 1995; Drackley, 1999) (Abb. 2). Die Angaben zur Länge der „transition period“ variieren zwar zwischen den Autoren, es ist aber unumstritten, dass diese Phase geprägt ist von vermehrt auftretenden gesundheitlichen Problemen (Drackley, 1999).

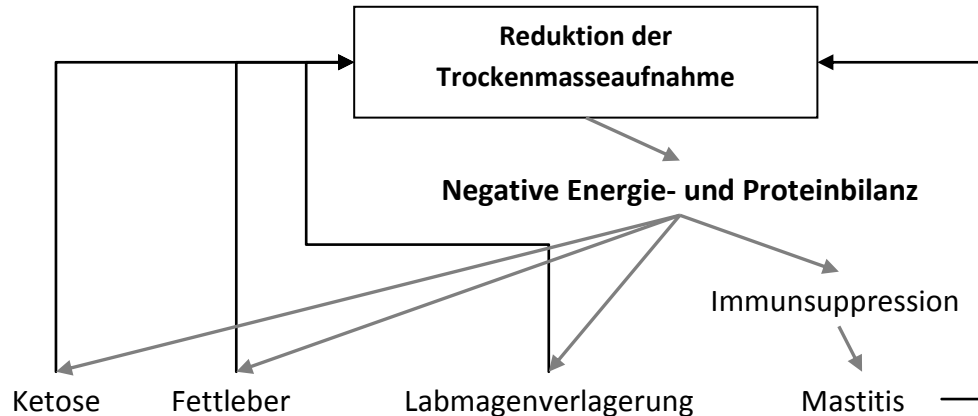


**Abb. 2: Graphische Darstellung der Phasen im peripartalen Zeitraum.**

Der Stoffwechsel ist in diesem Zeitraum besonderen Belastungen ausgesetzt, denn innerhalb weniger Tage stellt er sich von anabolen Prozessen während der Trächtigkeit auf katabole Prozesse während der Laktation um.

Ausgehend von den Milchleistungen der letzten Jahre (Agrarbericht MV 2009) sind in Deutschland zurzeit Kühe mit einer Leistung von über 9.000 kg Milch pro Laktation als Hochleistungsmilchkühe zu bezeichnen. Nach Veerkamp et al. (2000) ging das gestiegene genetische Potenzial für sehr hohe Milchleistungen nicht mit einem ansteigenden genetischen Potenzial für hohe Trockenmasseaufnahme (TS-Aufnahme) einher. Das

Potenzial zur Produktion solcher hohen Milchmengen kann sich negativ auf die Gesundheit der Tiere auswirken (Dechow et al., 2004, Westwood et al., 2000). Vor allem im peripartalen Zeitraum treten vermehrt Krankheiten auf, die im Zusammenhang mit hohen Milchleistungen zu betrachten sind. Während des Übergangs von Trächtigkeit zur Laktation sind erhebliche Anpassungen des Stoffwechsels erforderlich, die teilweise den Organismus überfordern und zum Auftreten von Krankheiten führen (Goff, 2006). In erster Linie führt die energetische Mangelsituation, die durch hohe Energieverluste infolge der Milchsekretion mit gleichzeitig unzureichender Aufnahme von Energie auftritt, zur Mobilisierung von körpereigenen Fettreserven. Gemessen am Energiebedarf vermag das Tier mit dem Futter lediglich etwa 70 % der benötigten Energie aufzunehmen (Drackley, 1999). Der daraus resultierende, kompensatorische Abbau von Fettreserven steht in engem Zusammenhang zu Krankheiten wie Fettleber, Ketose, Labmagenverlagerung und Mastitis (Goff, 2006) (Abb. 3). Die unzureichende TS-Aufnahme in der frühen Laktation ist also Ausgangspunkt für die gesundheitlichen Probleme.



**Abb. 3: Zusammenhänge zwischen reduzierter Futteraufnahme und gesundheitlichen Problemen bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum (nach Goff, 2006).**

## 2.2. Energiestatus und Lipidstoffwechsel

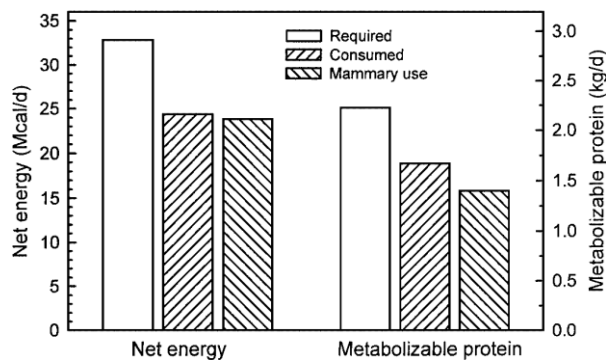
Die Energieaufnahme von Hochleistungsmilchkühen ist bereits in den letzten Tagen vor der Kalbung reduziert (Bertics et al., 1992). In dieser Phase ist der Bedarf an Nährstoffen für Fetus und Euter sehr hoch. Bereits in den letzten 30 Tagen der Trächtigkeit beginnen die

Anpassungsvorgänge im Stoffwechsel (McNamara, 1991), die durch Trächtigkeit, Geburt und Laktation notwendig werden. In der Früh-laktation kommt es aufgrund eines im Vergleich zur Energieaufnahme höheren Bedarfs an Energie für Erhaltung und Milchleistung zur Ausbildung einer negativen Energiebilanz (NEB). Die Phase der NEB ist gekennzeichnet durch einen Verlust an Körpermasse, wobei eine Reduktion der Körpermasse von bis zu 50 kg bei Rindern der Rasse Holstein-Friesian als physiologisch angesehen wird (Staufenbiel und Schröder, 2004). Die TS-Aufnahme erreicht ihr Maximum erst deutlich später als die Milchproduktion (Ingvarsen und Andersen, 2000; Garnsworthy und Topps, 1982) und der Übergang von einer katabolen zu einer anabolen Stoffwechselsituation setzt zwischen dem 40. und 100. Laktationstag ein (Koenen et al., 2001; Coffey et al., 2004; Friggens et al., 2004; Pryce und Harris, 2006; Sumner und McNamara, 2007). Der Bedarf an Energie wird vorrangig durch die Milchleistung bestimmt (Coppock, 1985). Evolutionsbedingt erhält die Milchproduktion als Bestandteil der Arterhaltung den Vorzug gegenüber anderen Stoffwechselfvorgängen (Bauman, 2000).

### 2.2.1 Negative Energiebilanz und Fettmobilisierung

Nach Grummer (1995) erreicht die NEB bereits in der ersten Woche der Laktation das größte Ausmaß. In Abb. 4 ist für den 4. Laktationstag die über das Futter aufgenommene Menge an Energie und Protein im Vergleich zum Bedarf dargestellt. Es wird deutlich, wie groß die Diskrepanz zwischen Bedarf und Aufnahme ist. Die NEB in der frühen postpartalen Phase ist hinsichtlich des Ausmaßes und der Dauer stark tierindividuell ausgeprägt (Butler et al., 1981). Das Maximum der Milchleistung wird durchschnittlich zwischen der 5. und 7. Laktationswoche erreicht und das Maximum der TS-Aufnahme zwischen der 8. und 22. Laktationswoche (Ingvarsen und Andersen, 2000). Der Wechsel in den positiven Bereich der Energiebilanz (EB) ist im Durchschnitt ab der 8. Laktationswoche zu beobachten (Stevenson und Britt, 1979; Boisclair et al., 1986; Staples et al., 1990; Gallo et al., 1996; Domecq et al., 1997; Van Knegsel et al., 2007; Van Dorland et al., 2009). Die NEB ist ursächlich für die erhöhte Lipolyserate, die zur Kompensation des Mangels einsetzt und durch lipolytisch wirkende Hormone (z.B. Glucagon, Adrenalin, Noradrenalin) initiiert wird. Versuche mit

energiereichen Rationen in den ersten Wochen der Laktation zeigten keine Reduktion des Körperfettabbaus (Gagliostro und Chilliard, 1991; Grummer et al., 1995; Anderson et al., 2003; Ruppert et al., 2003; Roche et al., 2006; Pedernera et al., 2008).



**Abb. 4: Bedarf an Energie und umsetzbarem Protein sowie den Mengen, die durch Futter aufgenommen und durch die Milchdrüse genutzt werden am 4. Laktationstag (Drackley, 1999).**

Offenbar wird in der frühen Phase der Laktation die Lipolyse durch genetische Faktoren reguliert (McNamara und Hillers, 1986a, b; Smith und McNamara, 1990). Die beim Abbau des Körperfetts entstehenden freien Fettsäuren (NEFA) verursachen im Blutplasma erhöhte Werte (Goff und Horst, 1997), wobei es eine positive Korrelation zwischen Lipolyserate und Gehalt an NEFA im Plasma gibt (Pullen et al., 1989; Bobe et al., 2004). Erhöhte NEFA-Konzentrationen hatten *in vitro* eine Beeinträchtigung der Immunantwort zur Folge (Suriyasathaporn et al., 2000). Daher kann die Konzentrationshöhe der NEFA im Plasma durch ihre immunsuppressive Wirkung (Rukkamsuk et al., 1999) als Indikator für die Krankheitsanfälligkeit des Einzeltieres angesehen werden. Der NEFA-Gehalt spiegelt sehr gut das Ausmaß der NEB (Pullen et al., 1989) und damit den Gesundheitszustand (Goff und Horst, 1997) wider.

Das Energiedefizit steht im Zusammenhang mit verschiedenen Faktoren. Dazu zählen das genetische Milchleistungspotenzial (Westwood et al., 2000) und die Körperkondition zum Zeitpunkt der Kalbung (Garnsworthy und Topps, 1982). Die TS-Aufnahme spielt eine zentrale Rolle, denn die Energieaufnahme ist der limitierende Faktor für die Milchproduktion (Allen, 2000). Ein höheres genetisches Milchleistungspotenzial ist mit einem größeren Körperfettverlust verbunden, der sich in einer Reduktion der BCS-Note widerspiegelt und mit einer schwerer verlaufenden NEB einhergehen kann (Pryce et al., 2001).

## 2.2.2 Leberverfettung, Ketose und Lipogenese

Die beim Fettabbau entstandenen NEFA werden ins Blut abgegeben und an Serumalbumin gebunden zur Leber transportiert (Bell, 1980). Die Plasmakonzentration korreliert positiv mit der in die Leber aufgenommenen Menge an NEFA, und damit mit der Leberlipidkonzentration (Emery et al., 1992; Grummer et al., 1994; Grum et al., 1996; Bertics et al., 1992; Vazquez-Anon et al., 1994). Zu Triacylglyceriden (TAG) revereesterte NEFA werden in der Leber gespeichert und können, eingebaut in Lipoproteine sehr geringer Dichte (very low density lipoproteins; VLDL), aus dem Organ ausgeschleust werden. Da dieser Weg der Ausschleusung mengenmäßig geringer ist als die TAG-Synthese kommt es zur Speicherung in der Leber (Bremmer et al., 2000; Pullen et al., 1990; Herdt et al., 1988). Grummer (1993) und Kleppe et al. (1988) beschrieben, dass Wiederkäuer für eine exzessive Fettinfiltrierung anfällig sind. Ein hoher TAG-Gehalt in der Leber beeinflusst die Futteraufnahme negativ (Grummer, 1993), wodurch sich die energetische Mangelsituation weiter verschärft. Bei energetisch ausgeglichenen oder anabolen Stoffwechselverhältnissen werden die NEFA über die  $\beta$ -Oxidation und den Citratzyklus vollständig zu  $\text{CO}_2$  oxidiert. Dieser weitere Abbau von Acetyl-CoA im Citratzyklus ist abhängig von der Verfügbarkeit Oxalacetats aus dem Glucosestoffwechsel. Wenn glucoplastische Verbindungen nicht ausreichend zur Verfügung stehen, kommt es zur verminderten Bereitstellung von Oxalacetat, was zum Eintritt von Acetyl-CoA in den Stoffwechselweg der Ketogenese führt. Man spricht hier auch von einer unvollständigen Oxidation von Fettsäuren (FS). Bei der Bildung von Ketonkörpern über das physiologische Maß hinaus entsteht das Krankheitsbild der Ketose (Drackley et al., 2001). Häufig wird die Ketose in der zweiten bis sechsten Laktationswoche diagnostiziert (Drackley, 1999). Es handelt sich dabei um eine Störung des Intermediärstoffwechsels, die mit erhöhten Gehalten von Ketonkörpern bei parallel vermindertem Blutzuckerspiegel und Glykogengehalt in der Leber (Baird, 1982) einhergeht. Auch die subklinische Form der Ketose führt zur Leistungsminderung und ist damit von wirtschaftlicher Bedeutung (Baird, 1982). Die Körperkondition zum Zeitpunkt der Kalbung steht in engem Zusammenhang mit der Ausbildung der Ketose (Rukkwamsuk et al., 1999). Tiere mit einem zu hohen Körperfettanteil zum Zeitpunkt der Kalbung weisen eine geringere Futteraufnahme p.p. auf (Roche et al., 2009), wodurch sich die NEB verschärft und damit die

Ketogenese befördert wird. Das Verhältnis zwischen TAG und Glykogen in der Leber kann als Indikator für eine Ketose herangezogen werden.

Während der Laktation setzt mit einer positiven EB der Prozess der FS-Synthese als Teil der Lipogenese ein (ca. ab 8. Laktationswoche). Die Synthese der FS findet bei Rindern zu 90 % im Fettgewebe bzw. im Euter statt. Hierbei wird Acetyl-CoA schrittweise um eine C2-Einheit, die vom Malonyl-CoA stammt, verlängert. Der erste Schritt besteht in der Carboxylierung des Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA und wird über das Schlüsselenzym Acetyl-Coenzym A Carboxylase  $\alpha$  (ACC $\alpha$ ) reguliert (Abb. 5). Diese Reaktion ist irreversibel und hat eine Schrittmacherfunktion (Stryer, 1990). Im Vergleich zu Monogastriern, die Glucose für die FS-Synthese nutzen, ist bei Wiederkäuern Acetat aus der Pansenfermentation die wichtigste Kohlenstoffquelle (Roche et al., 2009). Die Expression von ACC $\alpha$  ist abhängig vom Laktationsstadium und dem Gewebe, wie Untersuchungen an Ratten zeigten (Ponce-Castaneda et al., 1991). Mit der Kalbung steigt im Eutergewebe die mRNA Konzentration von ACC $\alpha$  stark an, während sie gleichzeitig im Fettgewebe absinkt. Demgegenüber konnte in der Leber nur ein leichter Anstieg und ein deutlich geringeres Niveau der mRNA Konzentration von ACC $\alpha$  in den ersten Wochen der Laktation beobachtet werden.



**Abb. 5: Die Carboxylierung von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA, als erster Schritt der Fettsäuresynthese. Biotin ist als prosthetische Gruppe an ACC $\alpha$  gebunden. Über die Bildung des Zwischenprodukts Carboxybiotin wird deren CO<sub>2</sub>-Gruppe auf Acetyl-CoA übertragen (Stryer, 1990).**

Durch Veresterung von Glycerin mit drei FS entstehen TAG. Für diesen Reaktionsschritt liegt Glycerin als Glycerin-3-Phosphat vor, welches wiederum durch Reduktion von Dihydroxyacetonphosphat entsteht. An dieser Stelle befindet sich die Verbindung der TAG-Synthese mit der Glycolyse bzw. der Gluconeogenese, in denen Dihydroxyacetonphosphat als Zwischenprodukt von Bedeutung ist.



## 2.3 Charakterisierung des Stoffwechsels im peripartalen Zeitraum

### 2.3.1 $\beta$ -Hydroxybutyrat, freie Fettsäuren, Cholesterol und Leptin

Neben Aceton und Acetoacetat gehört auch  $\beta$ -Hydroxybutyrat (BHB) zu den Ketonkörpern. Es wird entweder in der Pansenwand durch Resorption und Hydroxylierung von Butyrat oder über die Ketogenese in den Hepatozyten gebildet. BHB macht ca. 81 % der gesamten Ketonkörperkonzentration aus (Schlerka und Filar, 1981). Die BHB-Konzentration gilt als der wichtigste Indikator für das Ausmaß der Ketogenese (Russel und Wright, 1983) und das Fettleberrisiko (Gröhn et al., 1983). BHB kann als leicht zugänglicher Energielieferant durch die Muskulatur und andere Gewebe verwertet werden (Rukkwamsuk et al., 1998), was einen glucosesparenden Effekt hat. Weiterhin nutzt die Milchdrüse BHB (und auch Acetat) zur de novo Synthese von NEFA und zur Milchfettbildung (Luick, 1960). Die Plasmakonzentration an BHB gilt als Indikator für physiologische Imbalance und Ketose (Geishauser et al., 2000; Enjalbert et al., 2001; Nielsen et al., 2003). Bis zu einem gewissen Grad ist die Bildung von Ketonkörpern als kompensatorische Maßnahme des Organismus zur Balancierung der energetischen Situation anzusehen (Chilliard et al., 1998). Während der physiologische BHB-Konzentrationsbereich im Blut nach Füll (2004) zwischen 340 und 620  $\mu\text{mol/l}$  liegt, beginnt nach Duffield et al. (2009) die subklinische Ketose ab einer Konzentration von 1000  $\mu\text{mol/l}$ . Dieser Metabolit ist auch im Zusammenhang mit der TS-Aufnahme von Bedeutung (siehe Kapitel 2.4).

NEFA entstehen neben Glycerin bei der hydrolytischen Spaltung von TAG. Bei chronischer energetischer Unterversorgung wird die Lipogeneserate gesenkt, die Lipolyserate erhöht und NEFA verstärkt mobilisiert (Bauman und Currie, 1980; Bell, 1995). Sie stellen die wichtigste verfügbare energetische Quelle in dieser Zeit dar (Drackley, 2002). Die Körperkondition scheint einen Einfluss auf den Umfang der Lipolyse zu haben. Tiere, die zum Zeitpunkt der Geburt überkonditioniert sind, weisen eine verstärkte Lipolyserate und damit auch höhere Gehalte an NEFA im Blut auf (Rukkwamsuk et al., 2000). Bereits in den letzten Tagen der Trächtigkeit steigt die NEFA-Plasmakonzentration an (Grummer, 1995).

Das Maximum wird in der ersten Woche p.p. erreicht, um dann langsam auf normale Werte abzusinken (Garcia-Bojalil et al., 1998). Weiterhin ist die TS-Aufnahme in der letzten Woche der Trächtigkeit mit dem NEFA-Gehalt im gleichen Zeitabschnitt negativ korreliert (Doepel et al., 2002). Die Wirkung von Futterfett auf die Konzentration der NEFA im Blut ist sehr uneinheitlich. In vielen Studien zeigte sich jedoch, dass Fett verschiedenster Zusammensetzung zum Anstieg der NEFA-Konzentration führte (Romo et al., 2000; Benson et al., 2002).

Die Synthese von Cholesterin findet hauptsächlich in der Leber und in der Darmschleimhaut statt. Es wird als Bestandteil von TAG-reichen Lipoproteinen oder als Lipoprotein hoher Dichte (HDL) exportiert (Grummer und Carroll, 1988), wobei der Gehalt an Cholesterin in den TAG-reichen Lipoproteinen gering ist. Nachdem sie aber durch Lipoproteinlipasen metabolisiert und TAG entfernt worden sind, steigt der Anteil an Cholesterylester. Cholesterinreiche Lipoproteine geringer Dichte (LDL) werden von der Leber und den peripheren Geweben verstoffwechselt und stellen die wichtigste Cholesterinquelle für steroidogene Gewebe dar. Menge und Anteil von Cholesterin aus LDL und HDL sind abhängig von der Spezies. Während beim Menschen Cholesterin im Blut hauptsächlich aus LDL stammt, ist es beim Rind HDL-Cholesterin (Grummer und Carroll, 1991). Sowohl die Fütterung von Fett (Storry et al., 1980) als auch die Laktation (Puppione, 1978) erhöhen die Konzentration von HDL-Cholesterin im Blut. Durch Fettfütterung wird die Absorption von Cholesterin aus dem Darm stark gesteigert. Während der Laktation ist vermutlich der VLDL-Metabolismus erhöht, so dass vermehrt HDL entsteht, die eine geringere Turnover-Rate aufweisen und so die Konzentration an HDL-Cholesterin gesteigert ist (Grummer und Carroll, 1988).

Leptin ist ein Proteohormon, welches hauptsächlich in Adipozyten gebildet wird und von Zhang et al. (1994) entdeckt worden ist. Die Leptinkonzentration spiegelt die Masse an Fettgewebe, die sich im Körper befindet, wider (Spiegelman und Flier, 2001). So konnte bei Rindern eine positive Korrelation zwischen Körperfettmasse und Leptinkonzentration festgestellt werden (Chilliard et al., 2001; Delavaud et al., 2002; Ehrhardt et al., 2000). In der frühen Laktation ist Leptin negativ korreliert mit dem NEFA-Gehalt (Accorsi et al., 2005), was ein Ausdruck der Fettmobilisierung ist. Über Rezeptoren am Hypothalamus hemmt Leptin die Futteraufnahme und damit eine Körpergewichtszunahme (KG) (Ahima und Antwi, 2008).

Leptinrezeptoren werden in unterschiedlichen Geweben exprimiert. Es wurden bislang zwei Typen von Rezeptoren nachgewiesen. Die biologisch sehr aktive, lange Form ist vor allem am Hypothalamus lokalisiert. Neben der Futteraufnahme wird hier auch die Stoffwechselrate, zellvermittelte Immunität und die Fortpflanzung beeinflusst (Savage, 2009). Gerade in Phasen energetischer Unterversorgung ist dieses System sehr empfindlich und führt mit niedrigen Leptinkonzentrationen zur Appetitsteigerung und reduzierten Stoffwechselraten (Ahima et al., 1996; Crocker und Yanovski, 2009). Die kurze Rezeptorform ist in verschiedenen Geweben lokalisiert und vermutlich bei der lokalen Regulation des Metabolismus von Bedeutung (Tartaglia, 1997). Im Laufe der Trächtigkeit steigt die Leptinkonzentration bei Ratten auf das 1,8-fache an und fällt direkt vor der Geburt stark ab (Chien et al., 1997). Untersuchungen bei Kühen ergaben, dass in Phasen der Mangelernährung um den Zeitpunkt der Kalbung herum die Konzentration reduziert ist (Block et al., 2001; Holtenius et al., 2003; Reist et al., 2003).

### 2.3.2 Regulation des Glucosestoffwechsels und Gluconeogenese

Glucose ist eine Vorstufe für den Aufbau von Milchzucker (Laktose), welcher als osmotisch wirkendes Disaccharid bei der Milchbildung für den Zufluss von Wasser aus dem Blut in die Alveolen verantwortlich ist (Guinard-Flament et al., 2006). Der Laktosegehalt der Milch ist relativ stabil und maßgeblich für die Milchmenge verantwortlich (Linzell und Peaker, 1971), womit die Laktogenese als entscheidender Prozess für sehr hohe Milchmengen angesehen wird (Rigout et al., 2002; Komatsu et al., 2005). Glucose wird aber auch zur FS- und Glycerinsynthese in der Milchdrüse benötigt. Etwa 70 – 85 % der im Euter verfügbaren Glucose werden zur Synthese von Laktose verwendet (Waghorn und Baldwin, 1984; Bell, 1995). Damit stellt Glucose einen begrenzenden Faktor für die Milchleistung dar. Für eine Milchmenge von 50 kg werden 3,6 kg Glucose benötigt (Kronfeld, 1982). Der Glucosebedarf steigt zwischen dem 21. d a.p. bis zum 21. d p.p. auf das zwei- bis dreifache an (Drackley et al., 2001). Während der Trockenstehphase verbleibt die Glucosekonzentration im Blut auf einem stabilen Niveau und fällt mit Einsetzen der Laktation rasch unter das Niveau a.p. (Reist et al., 2003). Fütterung von Futterfett hat eine

glucosesparende Wirkung, die dann für die Milchproduktion zur Verfügung steht (Grummer und Carroll, 1991, Palmquist und Jenkins, 1980). Futterfett beeinflusst die Glucosekonzentration im Blut nicht, wie in einer Reihe von Untersuchungen unter Verwendung unterschiedlicher Fette (Calciumseife, Pflanzenöl, Infusion von CLA in den Labmagen, cis oder trans FS) gezeigt werden konnte (Fahey et al., 2002; Kowalski et al., 1999; Madison-Anderson et al., 1997; Mackle et al., 2003; Romo et al., 2000).

Durch Gluconeogenese werden bis zu 90 % des gesamten Glucosebedarfs von Wiederkäuern bereitgestellt (Young, 1977; Wieghart et al., 1986). Kohlenhydrate aus der Nahrung werden im Pansen zu kurzkettigen FS (Propionat, Butyrat, Acetat) fermentiert (Owens et al., 1998) und nur eine begrenzte Menge an Glucose (10 – 28 % des gesamten Glucosebedarfs) wird aus dem Verdauungstrakt des Wiederkäuers absorbiert (Otchere et al., 1974; Bensadoun et al., 1962; Young et al., 1974). Der hohe Bedarf an Glucose tritt in der gleichen Laktationsphase auf wie die Leberverfettung. Welche Auswirkungen die Leberverfettung auf die Funktion der Leber hat und welche Konsequenzen für die Adaptationsfähigkeit des Organismus während der energetischer Unterversorgung damit verbunden sind, ist noch ungeklärt. Eine verringerte Harnstoffsynthese bei Rindern mit hochgradiger Leberverfettung (Strang et al., 1998) führte zu erhöhten Mengen an Ammonium, welches die Synthese von Glucose aus Propionat hemmt (Overton et al., 1999). Cadorniga-Valino et al. (1997) zeigten, dass mit ansteigender Leberverfettung die Fähigkeit der Hepatozyten zur Gluconeogenese vermindert wird. Somit kann von einer Beeinflussung der Gluconeogenese durch die Fettmenge in der Leber ausgegangen werden (Strang et al., 1998). Für die Synthese von Glucose ist bei Wiederkäuern quantitativ Propionat das wichtigste Substrat (Drackley et al., 2001; Geelen und Wensing, 2006). Weiterhin sind Valerat, Aminosäuren, Laktat und Glycerin von Bedeutung (Armstrong, 1965; Young, 1977; Drackley et al., 2001). Durch die verminderte Produktion von Propionat während einer energetischen Mangelsituation (Drackley et al., 2001) bekommen die glucogenen Aminosäuren, Laktat und Glycerin als Substrate für die Synthese von Glucose eine größere Bedeutung (Drackley et al., 2001; Reynolds et al., 2003).

Insulin ist das wichtigste anabol wirkende Hormon im Organismus. Die Insulinsekretion wird stimuliert durch Nährstoffe (z.B. Glucose, FS, Lysin, Galaktose) sowie parasymphatische und  $\beta$ -adrenerge Reize. Hemmend auf die Insulinsekretion wirken sich

z. B. die Hormone Glucagon, Galanin, Somatostatin sowie Catecholamine aus (Martin und Crump, 2003). Die Synthese von Insulin wird durch Glucose induziert und seine vorrangige Aufgabe besteht in der Regulation der Blutglucosekonzentration (Möstl, 2000). Insulin ist dabei für die Aktivierung eines Glucosetransportmoleküls verantwortlich, welches einen leichteren Transport von Glucose in Muskulatur und Fettgewebe zur Folge hat (Stangassinger, 2000). Für die Regulation der Blutglucosekonzentration ebenfalls bedeutsam ist eine über einen Konzentrationsgradienten funktionierende Glucoseaufnahme in die Leber, die aber insulinunabhängig ist (Stangassinger, 2000). Insulin wirkt außerdem stimulierend auf die Lipogenese und stellt beim Wiederkäuer das wichtigste antilipolytisch wirkende Hormon dar (Vernon, 1981). Insulin fördert die TAG-Synthese und die Bildung von Phospholipiden aus cytosolischem Acyl-CoA (Zammit, 1996; Cadorniga-Valino et al., 1997). Mit Einsetzen der Laktation fällt die Insulinkonzentration stark ab und steigt im Folgenden, verglichen mit der antepartalen Konzentration, auf ein höheres Niveau an (Ingvarsen und Andersen, 2000). Dieser Anstieg geht mit steigenden TS-Aufnahmen einher (Lucy et al., 1991) und spiegelt den Grad der Energieaufnahme wider (Staples et al., 1998). Reduzierte Insulinkonzentrationen bewirken eine verstärkte Nährstoffzuleitung zur Milchdrüse und verhindern die Aufnahme durch andere Gewebe. Propionat stimuliert die Sekretion von Insulin (Sano et al., 1995). In der langfristigen Regulation der TS-Aufnahme ist eine Wirkung von Insulin wahrscheinlich (McCann et al., 1992), aber eine Wirkung in der Phase der frühen Laktation, in der die Insulinkonzentration sehr gering ist, ist nach Ingvarsen und Andersen (2000) eher unwahrscheinlich. Die Fütterung von Fett hat keine einheitliche Wirkung auf die Konzentration von Insulin (Staples et al., 1998). In der Mehrzahl der verglichenen Versuche stellten Staples et al. (1998) reduzierte oder tendenziell reduzierte Insulinkonzentrationen fest. In anderen Studien, in denen der Ration CLA zugefügt wurde (Perfield et al., 2002; Bernal-Santos et al., 2003; Selberg et al., 2004), zeigte sich kein Einfluss auf Insulin.

Das Hormon Glucagon wirkt an verschiedenen Geweben (u.a. Gehirn, Bauchspeicheldrüse, Nieren). Der bedeutendste Wirkungsort ist aber die Leber (She et al., 1999). Den die Sekretion auslösenden Faktor stellt die Reduktion der Glucosekonzentration im Blut dar, was wiederum die Mobilisierung von Glykogenreserven aus der Leber erhöht. Die kurzkettigen FS Propionat und Butyrat regen die Sekretion von Glucagon an (De Jong, 1982; Brockman, 1982) und erhöhte Konzentrationen des Hormons haben einen

stimulierenden Effekt auf die hepatische Gluconeogenese (Möstl, 2000; Williams et al., 2006) und auf die Aufnahme von NEFA in die Mitochondrien der Hepatozyten (Kolb, 1980). Bezüglich der Regulierung der Glycolyse und der Gluconeogenese ist wahrscheinlich weniger die absolute Menge von Insulin und Glucagon entscheidend, als vielmehr das Verhältnis beider zueinander (Sallmann und Fuhrmann, 2000). Zum Zeitpunkt des Fettmobilisationssyndroms der Hochleistungsmilchkuh liegen erhöhte Glucagon- und verminderte Insulinkonzentrationen vor. Mit Einsetzen der Laktation und der in dieser Phase auftretenden NEB ist ein niedriges Insulin/Glucagon-Verhältnis charakteristisch (Herbein et al., 1985; Hammon et al., 2009). In einer Studie von Cummins und Sartin (1987) konnte gezeigt werden, dass durch eine Fettzulage das Insulin/Glucagon-Verhältnis im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht ist (Cummins und Sartin, 1987).

### 2.3.3 Energiebilanz und Rückenfettdicke

Zu Beginn der Laktation kann dem Körper durch die Futterraufnahme nicht in ausreichendem Maß Energie zugeführt werden, um die Milchproduktion ausschließlich über Futterenergie abdecken zu können (Coppock, 1985). Jede Hochleistungsmilchkuh durchläuft in Abhängigkeit zur Milchleistung eine Phase der NEB, welche in Dauer und Schwere variiert (Butler et al., 1981). Diese Situation führt zu einer homöorhetischen Reaktion (Staples et al., 1990), wobei neben dem Fettgewebe (Lipolyse) auch die Leber (Gluconeogenese, Glycogenolyse (Richards, 2004)), die Muskulatur (Proteinmobilisierung), die Knochen (Mineralstoffmobilisierung) und der Gastrointestinaltrakt (Erhöhung Kapazität und Aktivität) (Lucy et al., 1991) beteiligt sind. Nach Bauman und Currie (1980) sowie Bines und Hart (1982) werden im ersten Monat der Laktation ca. 30 % der Energie, die für die Milchproduktion benötigt wird, durch den Abbau von Körperfett bereitgestellt. Die EB ist insbesondere bei hochleistenden Milchkühen in den ersten Wochen der Laktation im negativen Bereich. Eine ausgeglichene bzw. positive EB wird ca. ab der 8. Laktationswoche erreicht (Stevenson und Britt, 1979; Gallo et al., 1996; Boisclair et al., 1986; Staples et al., 1990; Domecq et al., 1997). Die Körperkondition zum Zeitpunkt der Geburt (Pedron et al., 1993) und die TS-Aufnahme (Butler, 2000) sind entscheidende Parameter, die das Erreichen

einer neutralen EB beeinflussen. Nach Untersuchungen von Reist et al. (2002) ist die EB positiv korreliert mit der Glucose-, Cholesteroll-, Harnstoff- und Insulinkonzentration im Blut sowie den Gehalten an Laktose und Harnstoff in der Milch. Negative Korrelationen fanden die Autoren zwischen der EB und den Konzentrationen von NEFA, Albumin, BHB und Creatinin im Blut sowie den Gehalten an Azeton, Fett, Protein und dem Fett/Laktose-Verhältnis in der Milch. Die Fütterung von Fett zeigt keine einheitlichen Ergebnisse hinsichtlich der Auswirkung auf die EB. So konnten Drackley et al. (1998) eine positive Wirkung durch Futterfett ab der 4. Laktationswoche zeigen. Die Verwendung einer Ca-Seife führte bei Sklan et al. (1994) zu einer negativeren EB als in der Kontrollgruppe.

Zur Beurteilung der EB und der körperlichen Energiereserven kann die Dicke des Rückenfetts herangezogen werden. Als Rückenfettdicke (RFD) wird die Stärke der s.c. Fettauflage bezeichnet, die sich zwischen der Haut und der dem Musculus glutaeus medius und Musculus longissimus dorsi aufliegenden Fascia trunci profunda befindet (Schröder und Staufenbiel, 2006). Der Gehalt an Körperfett korreliert sehr stark ( $r = 0,9$ ) mit der Rückenfettdicke (Schröder und Staufenbiel, 2006). Eine Änderung der RFD um 1 mm ist mit etwa 5 kg Körperfett gleichzusetzen (Klawuhn und Staufenbiel, 1997). Sie sinkt innerhalb der ersten 100 Laktationstage auf ein Minimum ab, um im weiteren Verlauf der Laktation wieder anzusteigen. Gleichzeitig ist das Verlaufsniveau dieser Kurve tierindividuell (Schröder und Staufenbiel, 2006).

## 2.4 Futteraufnahme im peripartalen Zeitraum

Die Futteraufnahme im peripartalen Zeitraum ist aus den genannten Zusammenhängen von besonderem Interesse. Sie stellt die wichtigste Beeinflussungsmöglichkeit bezüglich des metabolischen Zustandes der Milchkühe dar (Illius und Jessop, 1996). Dabei sind die sehr komplexen Mechanismen, die die Futteraufnahme beeinflussen, noch nicht in Gänze erforscht (Ingvartsen und Andersen, 2000). Bei Milchkühen ist in den letzten drei Wochen der Trächtigkeit eine verminderte TS-Aufnahme zu beobachten (Bertics et al., 1992; Nocek et al., 2003), die zum Zeitpunkt der Kalbung ein Minimum erreicht (Ingvartsen und Andersen, 2000). In den letzten zwei Tagen der

Trächtigkeit beobachteten Vazques-Anon et al., (1994) eine Verringerung der TS-Aufnahme um 40 %.

Die physikalische Begrenzung der TS-Aufnahme im Pansen, bedingt durch den wachsenden Uterus und wachsenden Körperfettanteil, spielt zwar eine wichtige Rolle, ist aber nach Ansicht von Ingvarsen und Andersen (2000) bislang überschätzt worden. In der Hochträchtigkeit ist die TS-Aufnahme stärker reduziert, wenn die Ration einen höheren Kraftfutteranteil enthält (Coppock et al., 1974). Das legt den Schluss nahe, dass andere Faktoren als die physikalische Einschränkung der Aufnahmekapazität des Pansens von großer Bedeutung sind. Voelker Linton und Allen (2007) hingegen gehen für die Phase der frühen Laktation davon aus, dass die steigende Futteraufnahme durch die Dehnung des Pansens kontrolliert wird und diese den limitierenden Faktor darstellt. Unbestritten ist ein direkter Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Körperfett und der TS-Aufnahme. Hier besteht eine negative Korrelation (Grummer, 1995, Hayirli et al., 2002). Höhere Lebendmassezunahmen a.p. haben in der frühen Laktation eine verstärkte Mobilisation von Körperfett zur Folge und damit eine Reduktion der TS-Aufnahme (Ingvarsen und Andersen, 2000; Garnsworthy, 2007). Die infolge der Mobilisation ansteigenden NEFA-Gehalte sind negativ korreliert mit der TS-Aufnahme. Versuche, bei denen Rindern FS intravenös injiziert worden sind, zeigten dagegen nur eine leicht verminderte TS-Aufnahme (Bareille und Faverdin, 1996). Die Rolle, die FS und die  $\beta$ -Oxidation bei der Regulation der TS-Aufnahme spielen, ist nicht abschließend geklärt. Cholecystkinin und Glucagon-like-peptide-1 scheinen bei der Reduktion der Futteraufnahme von Bedeutung zu sein. So resultiert die Infusion von ungesättigten FS in erhöhten Gehalten an Cholecystkinin und Glucagon-like-peptide-1, die mit einer verminderten TS-Aufnahme im Vergleich zur Kontrollgruppe sowie der mit gesättigten FS infundierten Gruppe verbunden war (Bradford et al., 2008). In der angesprochenen Studie von Bradford et al. (2008) konnte kein Einfluss der FS auf Ghrelin festgestellt werden. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass diese Peptide zumindest teilweise in die Regulation der TS-Aufnahme und der Verzehrsdepression bei Fettfütterung eingebunden sind. Hohe Ketonkörperkonzentrationen stehen ebenfalls im Zusammenhang mit der Futteraufnahme. So wird einerseits die BHB-Konzentration von der TS-Aufnahme präpartal und peripartal beeinflusst (Enjalbert et al., 2001), andererseits kann auch die hohe BHB-Konzentration zur verminderten TS-Aufnahme führen (Laeger et al., 2010). Es besteht



eine negative Korrelation zwischen der Konzentration an BHB und der vorgeburtlichen Futteraufnahme (Grummer, 1993). Neben Insulin und Glucagon ist auch Leptin in die Regulation der Futteraufnahme involviert, wobei sinkende Leptinkonzentrationen im Plasma in der frühen Laktation für einen Anstieg der Futteraufnahme sorgen sollten. Das Ausbleiben dieser Reaktion legt nahe, dass neben Leptin noch weitere Faktoren von Bedeutung sind. Auch die im Pansen entstehenden kurzkettigen FS Acetat und Propionat sind Regulatoren der Futteraufnahme. Die Infusion von Propionat in die untere Eingeweidearterie von Färsen hatte eine Reduktion der TS-Aufnahme zur Folge, während die gleiche Menge Acetat keine Reaktion hervorrief (Elliot et al., 1985).

Auch die Fettfütterung hat Einfluss auf die Futteraufnahme. Die Art des Fetts, die Kettenlänge, der Sättigungsgrad und die Biohydrierung stellen Einflussfaktoren dar. Die Verwendung einer Ca-Seife führte in elf von 24 Studien zu einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme und sogar in 22 zu einer numerischen Minderung. Die weiterhin untersuchten Fettquellen (hydrierte FS und TAG, tierische Fette, Ölsaaten) zeigten keine so einheitliche Reaktion (Allen, 2000). Die Kettenlänge bzw. das Verhältnis von C16 zu C18 scheinen keinen Effekt auf die TS-Aufnahme zu haben (Allen, 2000). Beide senken die Futteraufnahme (Bremmer et al., 1998). In Bezug auf den Grad der Sättigung wirkt sich ein steigender Gehalt an ungesättigten FS ungünstig auf die Futteraufnahme aus (Drackley et al., 1992). Die Ursachen für diesen Zusammenhang sind nicht vollständig geklärt. Es wird vermutet, dass die Verdauung der Rohfaser bei steigenden Gehalten von ungesättigten FS in der Ration vermindert ist und dadurch die Pansenausdehnung für die Reduktion der Futteraufnahme unter anderem verantwortlich ist (Allen, 2000).

## 2.5 Fütterung von Fett im peripartalen Zeitraum

Bei der Supplementierung der Ration mit Fett ist zwischen ungeschützten und geschützten Fetten zu unterscheiden. Ungeschützte Fette unterliegen der Verwertung durch Pansenmikroben und es werden mehrfach ungesättigte FS in weniger ungesättigte und teilweise gesättigte FS umgebildet. Durch das Schützen von Fetten wird die Verdauung durch Bakterien im Pansen vermieden. Prinzipiell werden dazu vier unterschiedliche Verfahren

unterschieden. Nativen (aber unvollständigen) Schutz bieten die zellgebunden Fette („natürliches Coating“) in Form von Ölsaatexpellern oder geschroteten Vollsaaten. Diese Fettquellen eignen sich, um gezielt die FS-Zusammensetzung des Milchfetts zu beeinflussen. Bei den kristallinen Fetten handelt es sich um kaltgesprühte oder sprühgetrocknete Fette, die einen hohen Schmelzpunkt ( $>50\text{ °C}$ ) besitzen und so im Pansen unlöslich sind. Sie enthalten hohe Gehalte an Palmitin- und Stearinsäure. Mit panseninerten Materialien (z. B. Formaldehyd) umhüllte Fette („Coating“) werden im Pansen zwar in geringem Maß abgebaut, beeinflussen die Pansenflora aber auch nur in geringem Umfang. Durch Verseifung von natürlichen Fetten mit  $\text{Ca(OH)}_2$  entstehen Ca-Seifen, die im Pansen unlöslich sind. Die FS stehen nach Hydrolisierung im Labmagen für die Absorption im Dünndarm zur Verfügung. Sowohl kristalline und sprühgetrocknete (geprillte) Fette als auch Ca-Seifen sind gut riesel-, schütt- und mischfähig und lassen sich gut in eine TMR einmischen, um so Akzeptanzproblemen vorzubeugen. Grundsätzlich kann durch die Verwendung eines Futterfettes der Energiegehalt der Ration relativ einfach gesteigert werden und damit auch die Leistung der Tiere (Chouinard et al., 1997; Rodriguez et al., 1997). Zur Steigerung der Energiedichte wird üblicherweise der Kraftfutteranteil in der Ration erhöht, teilweise jedoch bis in den Grenzbereich von noch wiederkäuergerechten Rationen. Bei einer Zugabe von 0,75 kg eines Futterfettes zu einer Mais-Sojabohnenschrot-Mischung kann bei gleichbleibender TS-Aufnahme die aufgenommene Energie um 14,4 MJ NEL gesteigert werden (Coppock und Wilks, 1991). Durch die Supplementierung mit Fett gelingt es, das Verhältnis von Rau- zu Kraftfutter zu verbessern, da der Energiegehalt von Fett 2,3-mal höher ist als der von Stärke. Insbesondere die Fütterung von ungeschütztem Fett hat auch negative Konsequenzen. Sie kann zur verminderten TS-Aufnahme führen (Chouinard et al., 1997), sich nachteilig auf die Pansenflora (Oldick und Firkins, 2000) auswirken und führt zur verstärkten Biohydrierung von ungesättigten FS (Jilg et al., 1988). Durch das Schützen von Fett werden vor allem die negativen Auswirkungen auf die Pansenfermentation und die Biohydrierung verhindert. Während ungeschützte Fette nur bis zu einem Gehalt von 3 % der TS in der Ration zu verwenden sind (Chilliard, 1993; Jenkins, 1993), können pansenstabile Fette in deutlich größeren Mengen genutzt werden. Bis zu einem Anteil von 6 % der TS in der Ration ist der Einsatz unbedenklich, wohingegen bei einem Gehalt von 8 % der TS Beeinträchtigungen bei der Verdaulichkeit der Nährstoffe auftreten (Bateman und Jenkins, 1998).

Neben der Steigerung der Energiedichte durch Fett ist insbesondere die Auswirkung auf die Menge und Zusammensetzung der Milch von Bedeutung. In einer Reihe von Studien konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Fett die Milchleistung und die energetische Effizienz verbessert (Andrew et al., 1991; Schingoethe und Casper, 1991; Huber et al., 1994; Garnsworthy, 1996; Madison-Anderson et al., 1997; Rodriguez et al., 1997; Drackley et al., 1998, Moallem et al., 1999). Der Zusatz von Futterfett in Form von Ca-Seifen und geprillten gesättigten FS ergab keine einheitlichen Auswirkungen auf die Milchmenge (Grum et al., 1996; Enjalbert et al., 1997; Baumgard et al., 2000), wobei die Mehrzahl der veröffentlichten Studien einen erhöhenden Effekt von Futterfett auf die Milchproduktion nachweisen konnte. In Bezug auf den Milchfettgehalt kann es sich steigernd (Chouinard et al., 1998; Drackley et al., 1998; Moallem et al., 2000) oder senkend (Chouinard et al., 1997, 1998) auswirken und auch ohne Effekt bleiben (Enjalbert et al., 1997; Garcia-Bojalil et al., 1998; Khorasani und Kennelly, 1998). Die Auswirkung auf den Milchfettgehalt ist gering, wenn das verwendete Futterfett vollständig hydriert ist oder die Pansenmikroben umgangen werden können, indem ein pansengeschütztes Futterfett eingesetzt wird. Geschützte Fette verändern oftmals die FS-Zusammensetzung des Milchfetts und steigern eher die Milchfettmenge, als dass sie sie senken (Bauman und Griinari, 2001).

## 3 Material und Methoden

---

### 3.1 Tiermaterial und Haltung

Achtzehn Hochleistungsmilchkühe der Rasse Deutsch Holstein wurden von einem regional ansässigen landwirtschaftlichen Betrieb (Demmin, Mecklenburg Vorpommern) ca. 16 Wochen vor dem errechneten Kalbetermin zugekauft, wobei die Tiere eine 4-wöchige Quarantäne durchliefen. Alle Kühe waren Halbgeschwister, befanden sich in der ersten Laktation und hatten bis zum Zeitpunkt des Kaufes eine vergleichbare Milchleistung. Die geschätzte 305-Tage-Leistung der ersten Laktation lag für alle Tiere bei über 9.000 kg. Nach dem 300. Laktationstag wurden je neun Kühe randomisiert zwei Fütterungsgruppen zugewiesen. Die Kuhgruppen wurden aus logistischen Gründen in drei aufeinanderfolgende Durchgänge unterteilt. In jedem Durchgang sind beide Gruppen untersucht worden.

Die Kühe wurden in einem Tiefstreu-Liegeboxen-Laufstall mit Spaltenboden und Selbsttränken des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie (FBN) in Dummerstorf aufgestellt. Für die Futteraufnahme standen Wiegetröge (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik, Freising, Deutschland) zur Verfügung, die mittels elektronischer Tiererkennung (Ohr-Transponder) ausschließlich von jeweils einer zugewiesenen Kuh genutzt werden konnten. Etwa zehn Tage a.p. wechselten die Tiere in eine Abkalbebox mit Strohstreu und Selbsttränke, in der sie bis zum 1. Laktationstag blieben. Bis zum 5. d p.p. standen die Tiere in Anbindehaltung mit Gummimatte und Selbsttränke. Die darauffolgenden 90 Laktationstage wurden alle Tiere wieder im Liegeboxen-Laufstall aufgestellt. Das Trockenstellen erfolgte acht Wochen vor dem errechneten Kalbedatum mittels Gabe des Antibiotikums Nafpenzal (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) in jedes Euterviertel. Während der Laktation erfolgte eine 2-malige Melkung pro Tag (4.00 – 5.00 Uhr und 16.00 – 17.00 Uhr) in einem 2 x 4 Tandemmelkstand (DeLaval<sup>®</sup>, Tumba, Schweden).

## 3.2 Fütterung

In der Trockenstehphase wurde eine kohlenhydratreiche Kontrollration (CD) oder eine mit pansengeschütztem Fett angereicherte (FD) Ration gefüttert (Tab. 1).

Tab. 1: Zusammensetzung der eingesetzten Futterrationen

Futtermittel in % der TS	Trockenstehphase 1		Trockenstehphase 2		Laktation
	CD	FD	CD	FD	LD
Anwelksilage	76,2	77,5	29,4	32,5	17,3
Maissilage			17,9	18,9	1,5
Trockenschnitzel			17,7	18,6	12,8
Stroh <sup>a</sup>	17,3	20,0	10,6	11,1	1,1
Maisstärke	7,9		10,3		3,6
Fett <sup>b</sup>		2,8		4,7	
Byoprofin <sup>c</sup>					4,0
Gerstenschrot					13,5
Sojaextraktionsschrot			12,9	13,6	15,1
Heu					1,4
S-Lactal <sup>d</sup>			1,0	0,7	0,8
Futterkalk			0,2		0,4
Propylenglykol <sup>e</sup>					1,0
<b>Chemische Zusammensetzung (g/kg TS)</b>					
Rohprotein	122	127	151	161	170
Rohfett	28	51	22	62	33
Rohfaser	250	262	199	211	152
Stärke/Zucker	100	31	221	125	270
MJ NEL (pro kg TS)	5,8	5,9	6,8	7,2	7,2

<sup>a</sup>gehäckselt auf 1 – 2 cm Länge

<sup>b</sup>Hajenol, Harles und Jentsch GmbH, Uetersen, Deutschland

<sup>c</sup>Wulfa-Mast GmbH Dinklage, Deutschland (Sojaextraktionsschrot, geschützt durch Formaldehyd; 45 % Rohprotein, 2,5 % Rohfett, 6,5 % Rohfaser, 7,7 % MJ NEL)

<sup>d</sup>Spezialfutter Neuruppin GmbH & Co KG, Neuruppin, Deutschland (18 % Calcium, 8 % Natrium, 5 % Phosphor, 5 % Magnesium, 1.000.000 I.E. Vit. A, 125.000 I.E. Vit. D3, 3.000 mg Vit. E, 1.000 mg Kupfer, 6.000 mg Zink, 3.500 mg Mangan, 55 mg Kobalt, 100 mg Jod, 30 mg Selen)

<sup>e</sup>Dr. Pieper Technologie und Produktentwicklung GmbH, Wuthenow, Deutschland

Das pansengeschützte Futterfett Hajenol (Harles und Jentsch GmbH, Uetersen, Deutschland) ist ein Ca-Salz, bestehend aus 44 % Palmitinsäure, 40 % Ölsäure, 9,5 % Linolensäure, 5 % Stearinsäure und 1,5 % Myristinsäure. Es enthält 840 g Rohfett pro kg TS

und 20 MJ NEL pro kg TS und die scheinbare Verdaulichkeit liegt bei 78,3 % (Voigt et al., 2006). Die isoenergetisch und isonitrogen kalkulierten Rationen wurden ab zwölf Wochen vor dem Kalben bis zum Tag der Abkalbung vorgelegt. Der Zeitraum des Trockenstehens unterteilte sich in zwei Phasen, wobei die erste Periode die Woche 8 a.p. bis Woche 4 a.p. umfasste und die zweite die Woche 3 a.p. bis zur Kalbung. Mit Einsetzen der Laktation erhielten alle Kühe dieselbe Laktationsration (LD), welche keine Zusätze von pansengeschütztem Fett enthielt (Tab. 1). Die Rationen wurden ad libitum als Totale Mischration (total mixed ration, TMR) vorgelegt und zur Ermittlung der Futteraufnahme die Restmenge entweder automatisch durch die Wiegetröge ermittelt oder manuell gewogen (Abkalbeboxen, Anbindestand). Die Fütterung erfolgte zwei Mal pro Tag (5.00 Uhr und 16.00 Uhr). Monatlich gesammelte TMR-Futterproben wurden bei -20 °C bis zur Untersuchung gelagert und durch die Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt, Rostock nach der Weender Futtermittelanalyse untersucht (Naumann und Bassler, 1993). Die Ermittlung der TS der verwendeten Gras- und Maissilagen erfolgte wöchentlich. Dazu sind die Proben bei 60 °C für eine Dauer von 24 h und anschließend bei 105 °C für eine Dauer von 3 h getrocknet worden. Die ermittelten Daten und die Rationszusammensetzung waren Grundlagen zur Ermittlung der TS-Aufnahme des Einzeltieres.

### 3.3 Untersuchungsparameter

Für einen Teil der in Tab. 2 aufgeführten Untersuchungsparameter finden sich die Methodenprotokolle in der Veröffentlichung Duske et al. (2009) (in Kapitel 4.1). Dies sind neben zootechnischen und milchbezogenen Parametern, Leberfett- und Leberglykogenwerten auch Parameter im Plasma und Daten zur mRNA Konzentration. Die im Versuch weiterhin erhobenen Daten werden in Kapitel 3.3.4 und 3.3.5 näher ausgeführt. Die grundsätzliche Methodik der Untersuchung und Beprobung der Kühe ist im Folgenden beschrieben (Kapitel 3.3.1 bis 3.3.3).

Tab. 2: Untersuchungsparameter und -zeitpunkte

<b>Zootechnische Parameter</b>	<b>Einheit</b>	<b>Zeitpunkt</b>
TS-Aufnahme	kg	täglich
Energieaufnahme	MJ NEL/d	täglich
Energiebilanz <sup>1</sup>	MJ NEL/d	täglich
Körperschaft	kg	wöchentlich
Rückenfettdicke	mm	wöchentlich
Milchmenge/ECM <sup>1</sup>	kg	täglich
Milchfettgehalt	% und g/d	wöchentlich
Milchproteingehalt	% und g/d	wöchentlich
Milchlaktosegehalt	% und g/d	wöchentlich
Fettsäurezusammensetzung	%	Woche 2, 4, 14
<b>Blutproben</b>		
Glucose	mmol/l	
TAG	mmol/l	
BHB	mmol/l	
NEFA	mmol/l	
Albumin	mmol/l	
Cholesterol	mmol/l	a.p.: 55., 40., 30., 20., 15., 10., 5. d
Harnstoff	mmol/l	p.p.: 1., 5., 10., 15., 20., 28., 40., 55., 70., 85., 95. d
Leptin	ng/ml	
Bilirubin	mmol/l	
Insulin	µg/l	
Glucagon	mmol/l	
Laktat	mmol/l	
Glucagon/Insulin – Verh.		
<b>Leberbiopat</b>		
Leberfettgehalt	% der TS	
Leberglykogengehalt	% der TS	
<b>Genexpression</b>		
ACCA gesamt		a.p.: 10. d
Fibrinogen		p.p.: 1., 10., 28., 95. d
Albumin	Kopien x 1000/75 ng	
UCP2	mRNA	
AR2		
<b>Fettbiopat</b>		
ACCA gesamt		
ACCA-P1		a.p.: 10. d
ACCA-P2		p.p.: 1., 10., 28., 95. d
Fibrinogen	Kopien x 1000/75 ng	
Albumin	mRNA	
Leptin		
Leptinrezeptor		
UCP2		

<sup>1</sup> Details zur Berechnung sind in Kapitel 4.1 enthalten

### 3.3.1 Körpergewicht, Rückenfettdicke und Energiebilanz

Die Ermittlung des Körpergewichts (KG) erfolgte während der gesamten Versuchsperiode einmal wöchentlich mit Hilfe einer stationären Viehwaage. Zeitgleich erfolgte die Messung der Rückenfettdicke (RFD) nach Schröder und Staufenbiel (2006) mittels Ultraschallgerät (Aloka SSK-500, PPG HELLIGE GmbH, Freiburg, Germany). Die Messung wurde auf der Linie zwischen Sitzbeinhöcker und Hüfthöcker und dabei etwa 10 cm kranial des Sitzbeinhöckers durchgeführt. Sie umfasste die Haut und das s.c. Fett bis zur Fascia profunda. Die EB ist ebenfalls pro Woche ermittelt worden (Details zur Berechnung in Kapitel 4.1).

### 3.3.2 Blutproben und Fett- und Leberbioptate

Die Blutprobenentnahme (30 ml) erfolgte zu den in Tab. 2 genannten Zeitpunkten. Dazu waren die Tiere in einem Fressfanggitter mittels Halfter fixiert. Für die Entnahme aus der Vena jugularis kam ein Vacutainer (Vacuette, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) zur Anwendung. Die Beprobung erfolgte am Probenstag in der Zeit von 8.00 – 9.00 Uhr (3 h nach Morgenfütterung). Direkt nach der Entnahme lagerten die Proben auf Eis und wurden nach 30 min zentrifugiert (4 °C, 20 min, 1500 x g), aliquotiert und bis zur Messung der Parameter bei -20 °C aufbewahrt.

Die Gewinnung der Bioptate wurde an den Proben Tagen vor und nach der Kalbung in der Zeit von 9.00 – 11.00 Uhr vorgenommen. Dazu wurden die Tiere in einem Behandlungsstand fixiert und i.m. mit 1 ml Xylazin 2 % (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) sediert. Die Entnahme der subkutanen Fettgewebeprobe erfolgte an rasierten und desinfizierten Entnahmestellen 10 cm hinter dem Widerrist auf einer 10 x 10 cm großen Fläche. Das Areal wurde lokal subkutan mit 1 ml Lidocain 2 % (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) anästhesiert und die Fettgewebeprobe (bis zu 4 g) mit einem sterilen Skalpell entnommen. Zur Entnahme der Leberbiopsie im Bereich des zwölften Interkostalraums wurde die Punktionsstelle ebenfalls rasiert, desinfiziert und ebenfalls mit 1 ml Lidocain (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) betäubt.



Zur Probengewinnung wurde die Haut mit einem sterilen Skalpell ca. 1 cm aufgeschnitten. Es kam eine Biopsienadel zur Anwendung, die nach dem Prinzip des „Berliner Modells“ (Eickemeyer® Medizintechnik für Tierärzte, Tuttlingen, Deutschland) funktionierte. Die Bioplatmenge wird unter Entstehung eines Vakuums beim Herausziehen des Trokars aus der Hohnadel gewonnen. Die im Versuch verwendete Nadel hatte einen Durchmesser von 0,6 cm und eine Länge von 45 cm. Es konnte pro Eingriff eine Bioplatmenge von ca. 1 g entnommen werden und alle Proben wurden unmittelbar nach Entnahme in flüssigem Stickstoff aufbewahrt und anschließend bei -80 °C gelagert.

### 3.3.3 Milchleistung und Milchinhaltsstoffe

Die Erfassung der Milchmenge erfolgte automatisch zweimal täglich bei den Melkvorgängen. Zur wöchentlichen Bestimmung der Milchinhaltsstoffe wurde automatisch während des Melkvorgangs (morgens) eine Probe (50 ml) des Gemelks gesammelt worden. Die Untersuchung der Parameter Milchfett-, Milchprotein- und Milchlaktosegehalt fand im Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e.V., Güstrow, Deutschland statt. Die Energie-korrigierte Milchleistung (ECM) wurde pro Laktationswoche ermittelt und die FS-Zusammensetzung der Milch wurde in der 2., 4. und 14. Laktationswoche analysiert (Details in Kapitel 4.1).

### 3.3.4 Insulin, Glucagon, Albumin, Bilirubin, Harnstoff und Laktat im Plasma

Die Analyse von Albumin, Bilirubin, Harnstoff und Laktat wurde im Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern, Rostock, durchgeführt. Die Hormone Insulin und Glucagon wurden im FBN mittels Radioimmuno-Assay (RIA) bestimmt. Zur Analyse wurden die in Tab. 3 aufgeführten, kommerziell verfügbaren Kits verwendet. Die Messung der Hormone Insulin und Glucagon erfolgte am automatischen Gamma Counter WIZARD 1470 (Perkin Elmer LAS, Rodgau, Deutschland) und

alle weiteren Messungen am Cobas Mira (Hoffmann La-Roche, Basel, Schweiz). Das Verhältnis von Glucagon zu Insulin wurde auf molarer Basis berechnet.

**Tab. 3: Verwendete Kits zur Untersuchung von Hormonen und Metaboliten im Blut**

<b>Parameter</b>	<b>Bezeichnung und Hersteller</b>
Insulin	RIA, PI-12K, Linco Research, St. Charles, USA
Glucagon	RIA, GL-32K, Linco Research, St. Charles, USA
Albumin	A11A01664, Horiba Europe GmbH, Hannover, Deutschland
Harnstoff	LT-UR 0010, Labor+Technik Lehmann, Berlin, Deutschland
Laktat	LOX-PAP, LT-LC 0013, Labor+Technik Lehmann, Berlin, Deutschland
Bilirubin	Jendrassik a. Grof, BR 411, RANDOX, Crumlin, England

### 3.3.5 mRNA Konzentrationsdaten

Mit Hilfe der real time PCR wurden die mRNA Konzentrationshöhe von ACC $\alpha$ , Albumin, Fibrinogen und Uncoupling Protein 2 (UCP2) im Leber- und Fettgewebe analysiert. Das Transkriptlevel von Adiponektinrezeptor 2 (AR2) wurde nur im Lebergewebe bestimmt, während die mRNA Konzentration von ACC $\alpha$ -P1/2, Leptin und Leptinrezeptor nur im s.c. Fettgewebe analysiert wurde.

Das Probenmaterial wurde unter flüssigem Stickstoff gemörsert. Das gemahlene Gewebe (100 mg) wurden in 1 ml Trizol Reagent (Invitrogen, Darmstadt, Deutschland) suspendiert und mit der Kugelmühle Precellys 24 (Bertin Technologies, Montigny le Bretonneux, Frankreich) homogenisiert. Nach Zugabe von Chloroform (200  $\mu$ l) wurden die Proben 15 s mit der Hand geschüttelt und 2–3 min bei Raumtemperatur inkubiert. Während der folgenden Zentrifugation (12.000 x g; 15 min) fand eine Phasentrennung statt. Die wässrige Phase wurde mit 1 ml Isopropanol gefällt und die RNA bei 12.000 x g für 15 min pelletiert. Der Überstand wurde anschließend abgezogen und das Pellet zwei Mal mit 70 %igem Ethanol gewaschen. Die Lösung der trockenen RNA erfolgte in 100  $\mu$ l RNase freiem Wasser (DEPC treated and autoclaved von Sigma Aldrich, München, Deutschland). Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mittels NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer.

Gesamt-RNA (1,5 µg) wurde gemeinsam mit genspezifischen reversen Primern und dNTP's (Roche, Mannheim, Deutschland) bei 70 °C für 10 min erhitzt, dann sofort auf Eis abgekühlt und mittels Superscript™ II Reverse Transcriptase (Invitrogen, Darmstadt, Deutschland) entsprechend der Vorschrift in 50 min bei 42 °C in cDNA umgeschrieben.

**Tab. 4: Verwendete Primer und Primer Sequenzen**

Primer	Primer Sequence (5' – 3')	Funktion	Länge (bp)	Messtemperatur (°C)
<b>Albumin</b>	CTCTGTTGCCTTGGGCTTGT	cDNA	186	79
	ACCTGCCCCATTAAGTCTGCT	forward		
	TGGCACAGCATTCTCCAGT	reverse		
<b>Fibrinogen</b>	TCTTCATGGACATCTTCTTCATTGAG	cDNA	234	83
	AAACCGGACCATGACCATCC	forward		
	TGCCAGTTCATCCACACCAC	reverse		
<b>UCP2</b>	AAAGTGGCAAGGGAGGTCGT	cDNA	126	86
	CGACTCCGTCAAGCAGTTCTAC	forward		
	ACCTTCACCACATCCGTTGG	reverse		
<b>AR2</b>	GCTGCCCTAGCCAATGAGAA	cDNA	205	85
	GGAGCACAGCAAGACTCCAGA	forward		
	GCCCATGAACCCCTCATCTT	reverse		

Die Aufreinigung der cDNA erfolgte mit dem High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Mannheim, Deutschland). Nach diesem Reinigungsschritt wurde die cDNA in 100 µl Wasser (DEPC treated and autoclaved von Sigma Aldrich, München, Deutschland) aufgenommen. Je 5 µl der cDNA wurden in der Realtime-PCR (Polymerase-Kettenreaktion) eingesetzt. Mit dem LightCycler® FastStart DNA MasterPLUS SYBR Green I Kit (Roche, Mannheim, Deutschland) und den entsprechenden reversen und forward genspezifischen Primern wurden die aufgereinigten cDNA's nun quantifiziert. Das entsprechende Gen wird durch die PCR im LightCycler (Roche, Mannheim, Deutschland) amplifiziert und quantifiziert. Je 5 µl der in 100 µl destilliertem Wasser aufgenommenen cDNA entsprechen 75 ng der gesamten RNA. Die Quantifizierung erfolgte mittels einem mitgeführten Standard, der aus dem zu messendem Gen kloniert wurde und somit konnte die Kopienanzahl je 75 ng der gesamten RNA ermittelt werden. Anschließend wurden die PCR-Produkte auf ein 3 %-iges Agarose-Gel aufgetragen, um die Qualität zu überprüfen.

### 3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung dieser Studie erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS (SAS Institute, 1999). Alle Ergebnisse sind mittels ANOVA und der Prozedur *Proc Mixed* analysiert worden und als least square means  $\pm$  gepoolte SEM (standard error of the means) dargestellt. Das dreifaktorielle Modell beinhaltete die Einflussgrößen Gruppe (FD, CD), Zeit (Tage/Wochen relativ zur Geburt) und Durchgang (1, 2, 3). Weiterhin ist die Interaktion Gruppe x Zeit berechnet worden. Die TS-Aufnahme zu Beginn der experimentellen Fütterung ging als Kovariable in die Berechnungen ein.

Zur Ermittlung von differenten Mittelwerten wurde der Tukey-Test als post hoc Test angewandt. Signifikanzen wurden definiert als  $P \leq 0,05$  und Tendenzen bei  $0,05 < P < 0,10$ . Die Daten zu den täglich erhobenen Parametern (TS-Aufnahme, EA, EB, Milchmenge) wurden pro Woche gemittelt und die Kopienanzahlen der mRNA Konzentrationen wurden logarithmiert, bevor die statistische Auswertung mittels SAS zur Anwendung kam. Die Konzentrationen von Metaboliten und Hormonen im Plasma (TAG, NEFA, BHB, Cholesterol, Glucose, Leptin, Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin, Insulin und Glucagon) wurden separat für die Zeiträume a.p. (letzten acht Wochen der Trächtigkeit), p.p. (1. – 95. d der Laktation), Transitphase (Woche 3 a.p. – Woche 4 p.p.) und gesamter Beobachtungszeitraum (Woche 8 a.p. – Woche 14 p.p.) analysiert. Das gleiche gilt für die Parameter KG und RFD. Für die Parameter TS-Aufnahme, EA und EB wurden neben der Analyse des gesamten Untersuchungszeitraum, die Trockenstehperiode unterteilt in die ersten fünf Wochen (Woche 8 – 5 a.p.) und die letzten drei Wochen (Woche 3 – 0 a.p.) sowie die ersten vier Wochen der Laktation (Woche 0 – 4 p.p.) und die verbleibenden zehn Wochen (Woche 5 – 14 p.p.). Die Milchparameter wurden mit demselben statistischen Modell analysiert, wobei die letzten vier Wochen der ersten Laktation, und die ersten vier Wochen der Laktation (Woche 0 – 4 p.p.) sowie die verbleibenden zehn Wochen (Woche 5 – 14 p.p.) der 2. Laktation separat betrachtet wurden. Die Zusammensetzung der FS in der Milch wurde für Laktationswoche 2, 4 und 14 untersucht. Alle Untersuchungsparameter der Leber und des s.c. Fettgewebes wurden an den Tagen 10 a.p., 1, 10, 28 und 95 p.p. verglichen.

## 4 Ergebnisse

---

Teilergebnisse dieses Projekts sind bereits im *Journal of Dairy Science* im Jahr 2009 erschienen und sind Inhalt des nachfolgenden Kapitels 4.1 (Duske et al., 2009). Es enthält die Ergebnisse zu den zootechnischen und milchbezogenen Parametern sowie den Metaboliten Glucose, BHB, NEFA, Cholesterol und dem Hormon Leptin. Weiterhin sind aus den Leber- und Fettbiopsaten die Daten zu ACC $\alpha$  gesamt, ACC $\alpha$ -P1/2, Leptin sowie der Leberfett- und Leberglykogengehalt diskutiert worden.

Die verbleibenden Ergebnisse sind in Kapitel 4.2 dargelegt. Dazu gehören die Resultate zu den Metaboliten Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin, und den Hormonen Insulin und Glucagon. Zudem sind aus den Leber- und Fettbiopsien die Ergebnisse zu Albumin, Fibrinogen, UCP2 und AR2 dargestellt.

### 4.1 Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation

K. Duske, H. M. Hammon, A.-K. Langhof, O. Bellmann, B. Losand,<sup>\*</sup> K. Nürnberg, G.

Nürnberg, H. Sauerwein,<sup>†</sup> H. M. Seyfert, C. C. Metges

*Research Institute for the Biology of Farm Animals (FBN), Dummerstorf, Germany*

<sup>\*</sup> *State Institute of Animal Production, Dummerstorf, Germany*

<sup>†</sup> *Institute of Animal Science, Physiology & Hygiene Unit, Rheinische Friedrich-Wilhelm University, Bonn, Germany*

J. Dairy Sci. 92:1670–1684

doi:10.3168/jds.2008-1543

©American Dairy Science Association, 2009.

## Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation

K. Duske,\* H. M. Hammon,\* A.-K. Langhof,\* O. Bellmann,\* B. Losand,† K. Nürnberg,\* G. Nürnberg,‡ H. Sauerwein,‡ H. M. Seyfert,\* and C. C. Metges\*<sup>1</sup>

\*Research Institute for the Biology of Farm Animals (FBN), 18196 Dummerstorf, Germany

†State Institute of Animal Production, 18196 Dummerstorf, Germany

‡Institute of Animal Science, Physiology &amp; Hygiene Unit, Rheinische Friedrich-Wilhelm University, 53115 Bonn, Germany

### ABSTRACT

Effects of dietary fat supplementation prepartum on liver lipids and metabolism in dairy cows are contradictory. Thus, we examined in 18 German Holstein cows (half-sib; first lactation 305-d milk yield >9,000 kg) whether dietary fat:carbohydrate ratio during the last trimester of gestation affects lipid metabolism and milk yield. The diets were formulated to be isoenergetic and isonitrogenous but differed in rumen-protected fat (FD; 28 and 46.5 g/kg of dry matter during far-off and close-up dry period; mainly C16:0 and C18:1) and starch concentration [carbohydrate diet (CD); 2.3 times as much starch as FD]. Diets were given ad libitum starting 12 wk before expected parturition. After parturition all cows were fed a single lactation diet ad libitum for 14 wk. With the FD treatment, dry matter intake was depressed prepartum, milk yield during first 4 wk of lactation was lower (36.9 vs. 41.0 kg/d), and postpartum energy balance during this period was more negative. During the first 4 wk, cows in the FD group had lower lactose percentage and yield but higher milk fat, whereas milk protein and fat yield as well as energy-corrected milk did not differ. Between wk 5 and 14, milk fat and milk protein percentage was lower in CD than in FD. Milk fat C14:0 was lower and C16:1 was higher in the FD group. For FD cows, plasma triacylglycerol, nonesterified fatty acids, and cholesterol concentrations were higher prepartum, whereas plasma  $\beta$ -hydroxybutyrate and glucose concentrations were lower. During the first 10 d after parturition, plasma triacylglycerol concentration was higher in FD, and prepartum plasma glucose and cholesterol differences persisted during the first 14 wk of lactation. Irrespective of prepartum nutrient composition, concentrations of plasma leptin and subcutaneous fat leptin mRNA decreased between -10 d to +10 d relative to parturi-

tion, and liver lipids and glycogen reached maximum and minimal values, respectively, 10 d after parturition. Acetyl-coenzyme A carboxylase  $\alpha$  mRNA abundance in subcutaneous fat decreased between -10 d to +1 d relative to parturition by 97%, whereas it was generally much lower in the liver and remained at a low level until wk 14 of lactation. In conclusion, feeding a diet containing rumen-protected fat during late lactation and dry period until calving negatively affected dry matter intake, energy balance, and milk yield during subsequent lactation, did not change acetyl-coenzyme A carboxylase  $\alpha$  mRNA abundance in subcutaneous fat, and was not beneficial for liver lipid accumulation. **Key words:** rumen-protected fat, dairy cow, lipid metabolism, dry period

### INTRODUCTION

The transition period of dairy cows is usually defined as the period from about 3 wk precalving to 3 wk postcalving and is of paramount importance for health and profitability (Grummer, 1995). This part of the lactation cycle is most important because of the sudden and profound physiological and metabolic changes in the course of transition from pregnancy to lactation. Regulation and coordination of lipid metabolism are key components of the adaptation to lactation (Drackley, 1999). During the first weeks of lactation, energy intake (EI) in high-yielding dairy cows is not sufficient to meet requirements for milk production and maintenance. Consequently, cows mobilize body energy stores in an attempt to counteract the energy deficit. Extensive mobilization of body fat is the most important factor for developing metabolic disorders such as fatty liver and ketosis (Vernon, 2005; Goff and Horst, 1997) due to a reduced ability to eliminate fatty acids (FA) via  $\beta$ -oxidation or export triacylglycerols (TAG) in the form of very low density lipoproteins (VLDL) from the liver (Grummer, 1993; Bell, 1995). There is large body of work showing that FA feeding in lactating dairy cows improves milk yield and milk fat

Received July 11, 2008.

Accepted November 28, 2008.

<sup>1</sup>Corresponding author: metges@fbn-dummerstorf.de



and energetic efficiency, and decreases milk protein and lipogenesis (Chilliard et al., 1991; Coppock and Wilks, 1991; Palmquist et al., 1993; McNamara et al., 1995; Jenkins and McGuire, 2006). In most of the studies, FA were supplied during early, mid, or mid to late lactation (Grummer et al., 1995; McNamara et al., 1995; Vazquez-Anon et al., 1997) or from a few days pre-calving to several weeks after calving (Moallem et al., 2007a,b; Petit et al., 2007; Van Knegsel et al., 2007). However, few studies examined the influence of dietary fat supplied solely during dry period, and during late lactation plus the dry period on lactation performance and metabolic changes during the following lactation. Cows supplemented with fat during between 60 until 7 d before calving had lower hepatic lipid contents at parturition in comparison to cows fed a control or a high-grain diet, which suggests that cows fed fat prepartum might not be predisposed for fatty liver syndrome (Grum et al., 1996). Fat supplementation during the whole dry period failed to affect periparturient lipid content in liver (Douglas et al., 2004, 2006). In contrast, others reported that hepatic lipid accumulation tended to increase at parturition by supplementation of fat 17 d prepartum (Skaar et al., 1989). Vazquez-Añon et al. (1997) found even elevated liver triglycerides at d 1 after parturition in cows fed high-fat diets for 19 wk during the previous mid to late lactation.

Acetyl-coenzyme A carboxylase alpha (**ACC $\alpha$** ) plays an important role in FA synthesis as well as in FA oxidation. It has been shown in rats that upon parturition, mammary gland transcript level of ACC $\alpha$  increases dramatically, whereas it decreases simultaneously in adipose tissue, with levels in liver being the lowest and changing only moderately (Ponce-Castaneda et al., 1991). Less information is available on the effect of macronutrient ratio on tissue-specific abundance of ACC $\alpha$  mRNA species in the periparturient cow (Sumner et al., 2008). Fat feeding increased or decreased plasma leptin concentration in rats (Cha and Jones, 1998; Ainslie et al., 2000) and did not change leptinemia in lactating cows fed fat during the transition period (Becu-Villalobos et al., 2007). Leptin receptor mRNA levels in adipose tissue were reported for male calves, prepubertal heifers, and late lactating cows but not for periparturient cows (Chelikani et al., 2003; Bernabucci et al. 2006; Thorn et al., 2007).

To investigate effects of fat feeding prepartum, we studied the immediate and long-term effects of a diet containing rumen-protected fat, fed throughout the last 12 wk of gestation in cows during their transition to second lactation on milk yield, EI, metabolic status, and transcript levels of leptin, leptin receptor, and ACC $\alpha$  species in s.c. fat and liver, respectively.

## MATERIALS AND METHODS

### Cows and Diets

The experimental protocol was approved by the relevant authorities (Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern; LALLF M-V/TSD/7221.3-1.1-048/05; LALLF M-V/TSD/7221.3-1.2-008/06). Eighteen German Holstein cows, with comparable milk production (first lactation >9,000 kg of milk in 305 d), were purchased from a local farm (Demmin, Germany) after about 300 DIM and were allocated to 2 feeding groups ( $n = 9/\text{group}$ ). All cows were daughters of dams inseminated by sperm of the same bull, and thus half-sisters. For logistic reasons, 3 cows in each group (total of 6 cows) were investigated during the same time period (block). Allocation was carried out randomly, but care was taken that average milk yield during the first 100 d of the first lactation, gestation stage, and BW did not differ among groups. Twelve weeks before expected parturition, cows received 1 of 2 diets differing in fat content [fat-accentuated diet (FD), carbohydrate-based diet (CD)] but formulated to be isonitrogenous and isoenergetic (Table 1). Eight weeks before expected parturition, cows were ceased to be milked, administered dry period antibiotics (Nafpenzal, Intervet, Unterschleißheim, Germany), and received a far-off and a close-up diet during wk 8 to 4 and from wk 3 to parturition, respectively, differing in fat:carbohydrate ratio (Table 1). The rumen-protected fat (Hajenol, Harles und Jentzsch GmbH, Uetersen, Germany) used consisted of Ca salts with mainly palmitic and oleic acid, and its apparent digestibility was 78.3% (Voigt et al., 2006). After parturition, all cows were fed the same lactation diet (LD). Diets were fed ad libitum as TMR at 0600 and 1500 h. The cows were milked twice daily at 0500 and 1600 h and housed in a pen with individual troughs placed on scales (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik, Freising, Germany) to monitor individual feed intake. Between 10 d before until 1 d after birth, cows were housed in calving boxes with straw. They were then moved to a tie-box until d 5 of lactation and subsequently returned to the pen.

Energy balance of cows was calculated as follows:

$$\text{EB} = \text{EI (MJ of NE}_L/\text{d)} - [\text{maintenance energy requirement (MJ of NE}_L/\text{d)} + \text{milk energy (MJ NE}_L/\text{d)}],$$

where maintenance energy (MJ of NE<sub>L</sub>/d) was calculated as  $0.293 \times \text{BW}^{0.75}$  and milk energy (MJ of NE<sub>L</sub>/d)

**Table 1.** Ingredients and chemical composition of fat supplemented (FD), carbohydrate-based (CD), and lactation (LD) diets fed to cows before and after parturition

Item	Far-off		Close-up		Second lactation <sup>1</sup>
	CD	FD	CD	FD	LD
Ingredient, % of DM					
Grass silage	76.2	77.5	29.4	32.5	17.3
Corn silage			17.9	18.9	1.5
Dried pulp			17.7	18.6	12.8
Straw <sup>2</sup>	17.3	20.0	10.6	11.1	1.1
Corn starch	7.9		10.3		3.6
Fat <sup>3</sup>		2.8		4.7	
Byoprofin <sup>4</sup>					4.0
Barley meal					13.5
Soybean meal			12.9	13.6	15.1
Grass hay					1.4
S-Lactal <sup>5</sup>		0.96	0.95	0.66	0.87
Limestone			0.16		0.42
Propylene glycol					0.99
Chemical composition, g/kg of DM					
CP	122	127	151	161	170
Crude fat	28	51	22	62	33
Crude fiber	250	262	199	211	152
Starch/sugar	100	31	221	125	270
NE <sub>L</sub> <sup>6</sup>	5.8	5.9	6.8	7.2	7.2

<sup>1</sup>From calving to 95 DIM.

<sup>2</sup>Straw was chopped at 1- to 2-cm length.

<sup>3</sup>Hajenol was a gift of Harles and Jentzsch GmbH (Uetersen, Germany) and contained 840 g/kg of DM crude fat (1.5% myristic acid, 44% palmitic acid, 5% stearic acid, 40% oleic acid, and 9.5% linoleic acid), 20.2 MJ of NE<sub>L</sub>/kg of DM, 120 g/kg of DM crude ash, and 95 g/kg of DM calcium.

<sup>4</sup>Byoprofin (Wulfa-Mast GmbH, Dinklage, Germany); protection of extracted soybean meal was through formaldehyde treatment.

<sup>5</sup>S-Lactal (Spezialfutter Neuruppin GmbH & Co. KG, Neuruppin, Germany).

<sup>6</sup>In MJ of NE<sub>L</sub> per kg of DM.

= milk (kg/d) × [0.95 + 0.38 × fat % + 0.21 × protein %] (German Society of Nutrition Physiology, 2001).

#### Tissue and Blood Sampling and Measurement of Zootechnical Variables

Liver and s.c. fat biopsies were taken 10 d before expected parturition and 1, 10, 28, and 95 d after parturition to determine liver fat and glycogen content and liver and s.c. fat mRNA abundance. The biopsy areas were clipped and disinfected. Before biopsy, the animals were sedated with 1 mL of Xylazin 2% (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Germany). Before sampling, the skin area around the 12th intercostal space was locally anaesthetized with 1 mL of Lidocain 2% (Serumwerk Bernburg AG) for liver biopsies, whereas for fat biopsies, a 10 × 10 cm skin area on the back approximately 10 cm behind the withers was locally anaesthetized with 10 mL of Lidocain 2% (Serumwerk Bernburg AG). After cutting the skin, liver tissue (ca. 1 mg) was extracted using a tailor-made biopsy needle (diameter 6 mm), and s.c. fat tissue was scraped with a sterile scalpel from the designated area. All tissue samples were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until analyzed.

Jugular blood samples were obtained by venipuncture at termed intervals pre- and postpartum until 95 d after parturition. Samples were taken at 0900 h and immediately before biopsy if both sampling time points fell on the same day. Blood was collected in vacutainers (Vacurette, Greiner Bio-One, Kremismünster, Austria) containing EDTA for determination of TAG, NEFA, BHBA, cholesterol, glucose, and leptin. Blood samples for plasma preparation were stored on ice directly after withdrawal and were centrifuged 30 min later. All samples were centrifuged at 4°C and 1,500 × g for 20 min. Aliquots were stored at -20°C until analysis.

Backfat thickness (BFT) was measured according to Schröder and Staufenbiel (2006) at an imaginary line between the hooks and pins at the sacral examination site once weekly by ultrasound (Aloka SSK-500, PPG Hellige GmbH, Freiburg, Germany). Body weight was also measured once weekly after the morning milking.

#### Feed and Milk Sampling and Analysis

Samples from complete TMR were taken monthly and stored at -20°C for determination of nutrient composition at the Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt, Rostock, analyzed by the Weender



standard procedure (Naumann and Bassler, 1993). For determination of DM, samples of grass and corn silage were taken weekly and dried at 60°C for 24 h and subsequently at 105°C for 3 h.

Milk aliquots were collected once weekly during morning milking for determination of fat, protein, and lactose contents and the composition of FA. Determination of milk fat, protein, lactose, and SCC in milk was performed by the Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e.V., Güstrow, Germany, using an infrared spectrophotometric method (Milcosan, Foss Germany, Rellingen, Germany).

Yield of ECM was calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{ECM (kg)} = & [(0.38 \times \text{g of crude fat} + 0.24 \\ & \times \text{g of CP} \times 0.17 \text{ g of lactose}) \\ & \times \text{kg of milk}] / 3.14 \text{ (Reist et al., 2003)}. \end{aligned}$$

Milk FA composition was determined in extracted milk fat. Twenty milliliters of n-hexane/isopropanol (3:2 vol/vol) and 10 mg of internal standard (C19:0 TAG) were added to 10 mL of milk and kept for 1 h at room temperature. The upper layer was combined with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, evaporated under N<sub>2</sub>, and sodium methoxide and BF<sub>3</sub>/MeOH (14%, wt/vol) were added to prepare FA methyl esters (FAME). The FAME were extracted twice, the upper layers containing FAME were pooled, and the solvent was evaporated under N<sub>2</sub>. The FAME were redissolved in 150 µL of n-hexane and stored at -20°C until analysis. The FA composition was determined by gas chromatography (Perkin Elmer GC Autosys XL, Waltham, MA) on a capillary column (CP SIL 88, 100 m × 0.25 µm; Chrompack, Varian,

Palo Alto, CA) with a flame ionization detector and split injection. The split ratio was 1:25, the injector was set at 260°C, and the detector at 280°C. Initial oven temperature was 120°C, held for 5 min, subsequently increased to 170°C at a rate of 2°C/min, held for 15 min, then to 200°C at 5°C/min, held for 5 min, then to 235°C at 2°C/min, and held for 10 min. Hydrogen (flow rate of 1 mL/min) was used as the carrier gas. A reference standard mixture (Sigma FAME mixture 18919, Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Germany) with additional C18:1 *trans*-11; C22:5n-3; conjugated linoleic acid *cis*-9, *trans*-11; C18:1 *cis*-11; C18:4n-3; and C22:4n-6 methyl ester was used for calibration and correction factors for individual FA.

#### Plasma Metabolites and Leptin, and mRNA Abundance in Fat and Liver Biopsies

Plasma metabolites (TAG, NEFA, BHBA, cholesterol, glucose) were analyzed by the Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern using routine methods. Analyses of TAG, NEFA, BHBA, cholesterol, and glucose were performed using commercially available kits (TAG: GPO-PAP, LT-TR 0015, Labor+Technik Lehmann, Berlin, Germany; NEFA: FA 115, Randox, Crumlin, UK; BHBA: RA-RB 1007, Randox; cholesterol: CHOD-PAP, LT-CH 0031, Labor+Technik Lehmann; glucose: GOD-PAP, LT-GL 0103, Labor+Technik Lehmann) (Hammon et al., 2008). All measurements were carried out with Cobas Mira (Roche, Basel, Switzerland).

The concentrations of plasma leptin were measured by a double antibody enzyme immunoassay as described by Sauerwein et al. (2004). The minimal detectable dose in the assay was 0.3 ng/mL, and the intra- and interassay CV were 3.6 and 7.8%.

**Table 2.** Primers used for real-time reverse transcription-PCR to analyze mRNA concentrations of leptin, leptin receptor, and acetyl-coenzyme A carboxylase α (ACCα), ACCα promoter 1 (ACCα-P1), and ACCα promoter 2 (ACCα-P2) in s.c. fat and liver biopsy samples

Target template	Primer sequence (5' - 3')	Function	Amplicon length (bp)	Measuring temperature (°C)
Leptin	TGGTAGATCGCCAATGTCTGG	cDNA	165	83
	GCGCTGTGGACCCCTGTAT	Forward		
Leptin receptor	CCCTCTGTTTGGAGGAGACG	Reverse	158	77
	CTTTCTGGGGGAGCAGAGGT	cDNA		
ACCα, total RNA	CAACTTCCACTGTTGCTTTTGG	Forward	244	79
	TCAAGTCCCTCTTTCATCCAGCA	Reverse		
ACCα-P1	TTTCAAGAGAAGTTCTGGGAGC	cDNA	233 [1:3:4:5]	79
	TGTTCTGATTGCCAACAATGGCA	Forward		
ACCα-P2	GCCAGACATGCTGGATCTTTG	Reverse	186 [1:3 or 4:5]	75
	TTTCAAGAGAAGTTCTGGGAGC	cDNA		
	GTCTGTCCATCTGTGAAGTATC	Forward	139 [1:5]	
	GAAGAAGGTTTCATCCATTGCTTC	Reverse		
	CGCCGCCGCCCTTGAG	Forward	96	
	GAAGAAGGTTTCATCCATTGCTTC	Reverse		

Quantification of mRNA concentrations of leptin, leptin receptor, total ACC $\alpha$ , as well as the concentrations of those ACC $\alpha$  mRNA moieties derived from either promoter 1 (ACC $\alpha$ -P1) or 2 (ACC $\alpha$ -P2) of this gene in s.c. fat and total ACC $\alpha$  in liver tissue was done by real-time reverse transcription-PCR (Light-Cycler 2, Roche). Primer sequences are shown in Table 2. The extraction and purification of RNA and mRNA quantification with the SYBR Green I kit (Roche) was essentially as described by Goldammer et al. (2004). However, we used for each assay a cDNA equivalent derived from 75 ng of total RNA. Relative copy numbers of the individual mRNA moieties were calculated from dilution series ( $10^6$  to 10 copies) of the respective cDNA subclones. All samples were measured twice, from 2 independent cDNA preparations. We used gel electrophoresis to routinely validate the quality of all Light-Cycler amplicons after each run.

#### Liver Glycogen and Fat Contents

Freeze-dried liver biopsy samples were ground in liquid nitrogen immediately before analysis. Liver glycogen was determined using a commercial photometric test kit (Beutler, 1984) based on amyloglucosidase-catalyzed release of glucose (no. 10207748035, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany). Determination of liver fat content was done based on carbon and nitrogen content according to Kuhla et al. (2004). Carbon and nitrogen contents were analyzed by combustion and elemental analysis using mass spectrometry (EA 1108, Carlo Erba Instruments, Rodano, Italy; Delta S, Finnigan MAT, San Jose, CA). The content of liver fat was calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{Liver fat (\% DM)} &= 1.3038 \times \text{C (\% DM)} \\ &- 4.237 \times \text{N (\% DM)} - 0.58 \times \text{glycogen (\% DM)} \\ &- 0.5215 \times \text{glucose (\% DM)}. \end{aligned}$$

#### Statistical Analyses

All data were analyzed by ANOVA using the PROC MIXED procedure (SAS Institute, 1999) and results are presented as least squares means  $\pm$  pooled SEM. The 3-factorial model considered the effects of diet (FD, CD), the repeated factor time (week relative to calving), block (1, 2, 3), the interaction of diet and time, and the interaction of block and diet. The DIM at the beginning of the experiment was incorporated in the model as a covariate. A post-hoc Tukey correction was performed. Measurements of DMI, EI, EB, and milk yield, obtained daily, were averaged weekly for every

cow, and gene expression data was log-transformed before statistical analysis.

For analysis of plasma concentrations of TAG, NEFA, BHBA, cholesterol, glucose, and leptin as well as BW and BFT, prepartum (8 wk before parturition; far-off and close-up periods), transition (3 wk before until 4 wk after parturition), postpartum [0 to 4 wk, 5 to 14 wk (95 DIM) of lactation], and the entire observation period from 55 d (8 wk) before parturition until 14 wk of lactation were analyzed separately. Evaluation of DMI, EI, and EB was performed for far-off dry, close-up dry, 0 to 4 wk and 5 to 14 wk postpartum, and the entire observation periods separately. The ANOVA evaluation of milk parameters using the same model as described above was conducted separately for the last 4 wk of first lactation, and periods from 0 to 4 wk and 5 to 14 wk of second lactation, respectively. Fatty acid composition of milk was analyzed for second lactation wk 2, 4, and 14. Hepatic fat and glycogen and s.c. fat gene expression levels were compared at d -10, 1, 10, 28, and 95. Significance was defined at  $P \leq 0.05$  and trends if  $0.05 < P < 0.10$ .

## RESULTS

#### BW and BFT

During the entire experimental period, BW and BFT were not influenced by diet (Table 3). Both groups increased BW during the last 8 wk of gestation. Cows of the FD and CD group lost approximately 70 kg ( $\pm 13.5$  kg), respectively, between 1 wk before and 1 wk after parturition. The next 4 wk were characterized by further BW losses and both groups reached a minimum BW at wk 4 of lactation with 568 kg in FD and 564 kg in CD ( $\pm 12.8$  kg) cows. At the end of the observation period, BW averaged 575 and 579 kg  $\pm$  12.8 in the FD and the CD group, respectively. Before parturition, BFT was not influenced by diet, decreased during the first 8 wk after parturition by 0.6 cm, and remained at 1.05 cm until the end of the experiment (95 DIM) irrespective of the prepartum diet.

#### DM and EI, Milk Production, and Energy Balance

We could not find differences in DMI and milk production during the last 4 wk of the first lactation in the 2 groups of cows (FD vs. CD: DMI, 15.4 vs. 15.2 kg/d,  $P = 0.86$ ; milk yield, 13.2 vs. 17.9 kg/d,  $P = 0.21$ ; fat 5.1 vs. 4.7%; fat yield 672 vs. 836 g/d; protein 4.1 vs. 3.7%; protein yield 566 vs. 652 g/d; all  $P > 0.12$ ).

Cows fed the FD diet decreased DMI during the far-off dry period, which led to a decreased EI ( $P < 0.05$ ;



**Table 3.** Least squares means and pooled SEM of BW, and back fat thickness (BFT), DMI, energy intake (EI), and energy balance (EB) from far-off dry period until 95 DIM of second lactation in cows fed a diet with rumen-protected fat (FD) or a carbohydrate-based (CD) diet during the last trimester of previous gestation

Item	Diet			P-value		
	CD	FD	SEM	Diet	Time	Diet × time
BW, kg						
Far-off	643.7	648.5	14.8	0.85	<0.01	0.1
Close-up	666.8	673.5	14.0	0.77	0.59	0.29
Postpartum wk 0–4	577.2	582.8	14.7	0.82	<0.01	0.85
Postpartum wk 5–14	572.7	572.7	11.2	0.99	<0.01	0.49
BFT, cm						
Close-up	1.62	2.04	0.3	0.34	0.24	0.29
Postpartum wk 0–4	1.42	1.69	0.2	0.41	<0.01	0.84
Postpartum wk 5–14	1.06	1.06	0.1	0.99	<0.01	0.42
DMI, kg/d						
Far-off	12.8	9.8	0.5	<0.01	<0.01	0.5
Close-up	11.8	10.4	0.5	0.11	<0.05	0.77
Postpartum wk 0–4	17.1	15.2	0.6	<0.1	<0.05	0.79
Postpartum wk 5–14	21.6	20.6	0.8	0.43	<0.01	0.33
EI, MJ of NE <sub>L</sub> /d						
Far-off	75.7	60.7	3.4	<0.05	<0.01	0.58
Close-up	78.3	70.6	4.1	0.27	<0.01	0.81
Postpartum wk 0–4	122.6	108.3	4.5	<0.1	<0.01	0.76
Postpartum wk 5–14	154.6	147.2	5.6	0.43	<0.01	0.38
EB, MJ of NE <sub>L</sub> /d						
Far-off	38.3	24.7	3.7	<0.05	<0.01	0.61
Close-up	39.8	31.9	4.4	0.28	<0.01	0.86
Postpartum wk 0–4	−0.6	−18.2	3.6	<0.01	<0.01	0.89
Postpartum wk 5–14	6.3	−4.2	5.2	0.23	<0.01	<0.05

Table 3). Postpartum DMI and EI tended to be lower during the first 4 wk of second lactation but did not differ between the FD and CD groups thereafter. In the second lactation, milk yield and ECM increased during wk 0 to 4, and FD cows showed a lower milk yield ( $P < 0.05$ ), but not ECM, whereas during wk 5 to 14, milk yield and ECM decreased, but did not differ between groups ( $P = 0.3$ ; Figure 1A and B). The percentage of milk fat and protein was affected by prepartum feeding. Fat content in milk was higher ( $P < 0.1$  and  $P < 0.05$ ) and protein content tended to be higher ( $P < 0.1$ ) from wk 5 in cows fed the diet with rumen-protected fat prepartum (Table 4). Milk lactose content and lactose yield were decreased for cows of the FD group during lactation wk 0 to 4 ( $P < 0.05$ ).

All cows were in positive EB prepartum and in negative EB postcalving until wk 11 and 8 for the FD and CD groups, respectively ( $P = 0.7$ ). Cows of the FD group had a less positive EB during the far-off dry period ( $P < 0.05$ ; Table 3) and showed a more negative EB balance during the first 4 wk postpartum ( $P < 0.01$ ).

No diet-dependent differences were observed for milk FA composition (data not shown) with the exception of C14:0 and C16:1. The FD group had a higher proportion of C16:1 (2.7 vs. 2.1%) and lower contents of C14:0 (11.2 vs. 12.5%) at all time points measured ( $P < 0.05$ ).

#### Plasma Concentrations of TAG, NEFA, BHBA, Cholesterol, and Glucose

Plasma TAG concentrations prepartum were higher in cows fed FD ( $P < 0.01$ ; Figure 2A). Considering the transition period between 3 wk before to 4 wk after parturition, TAG concentrations in FD were higher in contrast to CD ( $P < 0.01$ ). With the onset of lactation, TAG concentrations decreased in both groups but remained higher for 10 d in the FD group ( $P < 0.05$ ). Prepartum plasma concentrations of NEFA were higher in FD ( $P < 0.05$ ) than in CD cows but did not differ postpartum between the feeding groups (Figure 2B). Plasma NEFA concentrations began to increase distinctly around 7 d before parturition and peaked immediately after parturition. Plasma BHBA concentrations were lower in FD prepartum ( $P < 0.05$ ), whereas no diet-related differences were observed throughout the postpartum period (Figure 2C). Circulating BHBA concentrations decreased from 8 to 1 wk before calving and increased with the onset of lactation in both groups to reach a maximum at 5 DIM for cows fed FD and at 10 DIM for cows fed CD ( $P = 0.9$ ) before returning to prepartum concentrations. Plasma cholesterol concentration was higher ( $P < 0.05$ ) during the prepartum period in the FD group but decreased particularly during the last 3 wk before parturition (Figure 2D). After calving, the differences were reduced but

**Table 4.** Least squares means and pooled SEM of second lactation milk composition during lactation wk 0 to 4 and 5 to 14 of cows fed a diet with rumen-protected fat (FD) or a carbohydrate-based (CD) diet during the last trimester of previous gestation

Item	Period (wk)	Diet		SEM	P-value		
		CD	FD		Diet	Time	Diet × time
Milk fat							
%	0–4	3.7	4.1	0.1	<0.1	0.05	0.96
	5–14	3.6	4.1	0.1	<0.05	0.1	0.43
g/d	0–4	1,517	1,577	70	0.6	0.25	0.47
	5–14	1,420	1,557	49	0.1	<0.01	0.14
Milk protein							
%	0–4	3.0	3.1	0.1	0.36	<0.01	0.23
	5–14	3.1	3.3	0.1	<0.1	<0.01	0.77
g/d	0–4	1,241	1,143	46	0.21	0.45	0.27
	5–14	1,227	1,236	31	0.85	<0.01	0.76
Milk lactose							
%	0–4	4.9	4.7	0.03	<0.05	<0.05	0.49
	5–14	4.8	4.8	0.03	0.59	<0.05	0.76
g/d	0–4	1,994	1,685	56	<0.01	<0.01	0.52
	5–14	1,940	1,781	56	0.1	<0.01	0.89

plasma cholesterol remained higher in FD cows during the transition and postpartum period ( $P < 0.05$ ). In cows supplemented with fat prepartum, plasma glucose concentrations were lower between  $-30$  d until parturition ( $P < 0.05$ ) and remained lower postpartum until the end of the observation period as compared with CD ( $P < 0.05$ ; Figure 3).

#### Plasma Concentrations of Leptin and mRNA Abundance in Fat and Liver Biopsies

Plasma leptin concentration increased slightly until parturition irrespective of the diet, then declined rapidly to reach a nadir at 10 d after parturition, and remained low until the end of the observation period (Figure 4A). Concomitantly, leptin mRNA concentration in s.c. fat declined from 10 d before parturition to 10 d after, then remained constant (Figure 4B) but did not differ among feeding groups. Copy numbers of leptin receptor mRNA in the FD group followed the same pattern as leptin mRNA, whereas in CD cows, it remained on a similar level pre- and postpartum, but prepartum diet was not a significant factor (Figure 4C). Total ACC $\alpha$  as well as ACC $\alpha$ -P1 mRNA abundance in s.c. fat decreased from 10 d before parturition to 1 d after by 97% and remained on a low level until 95 DIM irrespective of the diet (Figure 5A, B). The ACC $\alpha$ -P2 mRNA concentration was at a much lower level than ACC $\alpha$ -P1 mRNA and declined peripartum by only 50%, hence a less drastic reduction as compared with total ACC $\alpha$  and ACC $\alpha$ -P1 mRNA (Figure 5C). Liver tissue total ACC $\alpha$  (Figure 5D), ACC $\alpha$ -P1, and ACC $\alpha$ -P2 (data not shown) mRNA abundance were generally at a lower level than in s.c. fat and remained unchanged from pre- to postpartum but increased slightly from

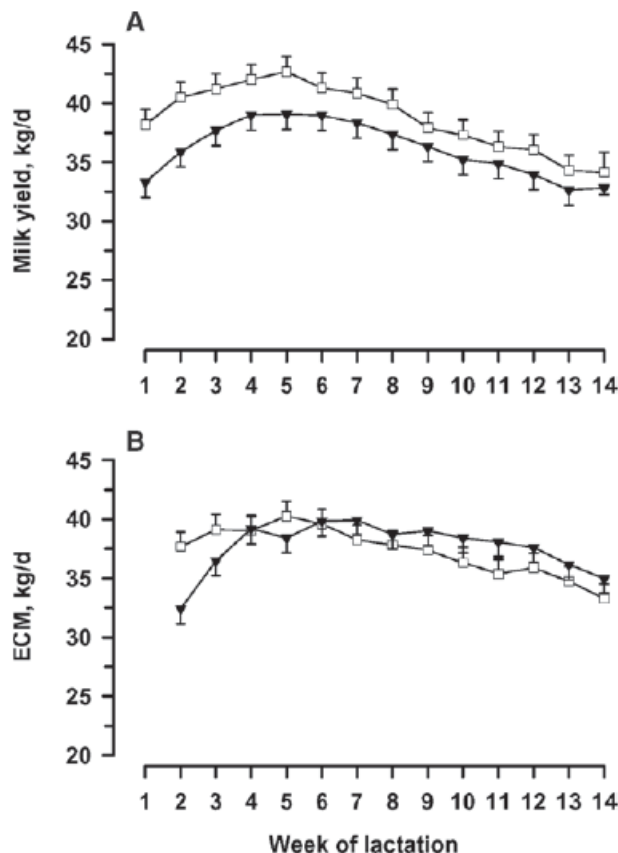
1 to 95 d postpartum. Prepartum diet was not a significant factor here. Ten days prepartum, total ACC $\alpha$  mRNA abundance in s.c. fat was 15 times higher than in liver. At 95 DIM, total ACC $\alpha$  mRNA concentrations were equivalent in s.c. fat and liver.

#### Liver Fat and Glycogen Contents

Content of liver fat increased between 10 d before calving to reach a maximum at +10 d postpartum and decreased thereafter (Figure 6 A). Although ANOVA did not show a significant effect of the prepartum diet, liver fat values of the FD group were numerically higher before parturition and did not show changes as distinct as those observed in the CD group. Liver glycogen followed an inverse course with minimum values at 10 d postpartum (Figure 6B). We could not find differences between feeding groups due to the large variation of liver fat values, which demands that these data be interpreted with caution. Nevertheless, liver fat-to-glycogen ratio prepartum was about 5 times as high in FD than in CD cows (4.8 vs. 1.0;  $P < 0.01$ ).

#### DISCUSSION

We expected that higher dietary fat intake prepartum could prevent excessive lipid mobilization in adipose tissue and thereby ameliorate DMI and EB in the subsequent lactation. However, fat feeding 12 wk prepartum in first-lactating cows resulted in reduced DMI prepartum, reduced milk yield in the first 4 wk of lactation, and a more negative EB. This was accompanied by increased milk fat and reduced lactose percentage, whereas protein percentage tended to be lower from wk 5 on. Daily lactose output was reduced



**Figure 1.** Least squares means of second lactation milk yield (A) and ECM yield (B) of cows fed a diet with rumen-protected fat (▼) or control diet (□) during the last trimester of previous gestation.

as a function of milk volume. Milk energy output was equivalent between feeding groups. Although not reaching statistical significance, in FD, we observe higher milk fat and protein percentage during the last 4 wk of first lactation. The reason for this is not apparent, but we suspect that higher milk fat percentage during this period is due to TAG transported by chylomicrons and utilized by the mammary gland. However, the small number of cows per treatment and the large variation demand that these data be interpreted with caution.

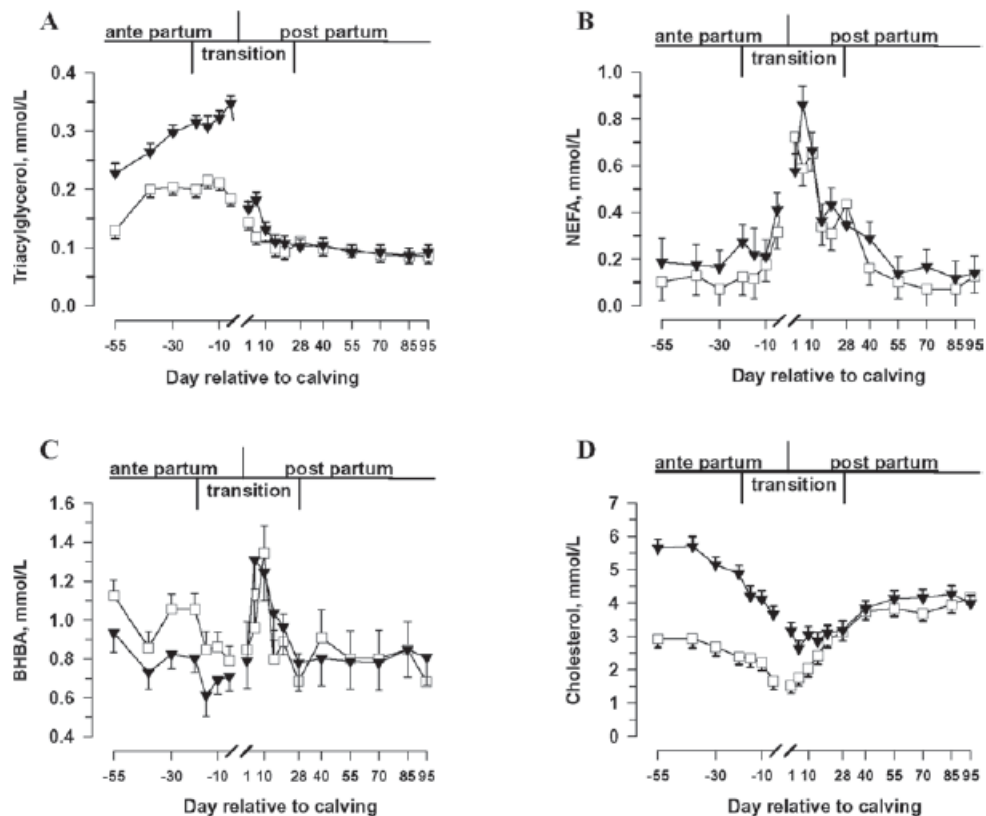
It is somewhat surprising that the FD group showed a more negative EB during early lactation in spite of unchanged ECM values and no difference in body fatness as judged by BFT and liver fat content. This might presumably be due to the numerically reduced EI postpartum (wk 0 to 4), which might be related to lower EI prepartum caused by prepartum fat feeding. In fact, when comparing DMI and EI for the whole period from the start of the experimental feeding to 95 DIM, both were lower for the FD group (DMI: 15.7 vs. 17.5

kg/d,  $P = 0.05$ ; EI: 110 vs. 120.4 MJ of  $NE_L/d$ ,  $P = 0.08$ ). It has been previously observed that prepartum fat feeding reduces postpartum feed intake (Moallem et al., 2007b).

Generally, studies addressing effects of prepartum fat feeding differ in regard to timing and duration of fat supplementation, energy density of the rations, and FA composition of the dietary fat. In only a few studies, fat-containing diets were fed solely during the dry period for 21, 35, 40, and 60 d before calving (Douglas et al., 2004, 2007; Moallem et al., 2007b; Andersen et al., 2008), whereas in the study of Grum et al. (1996), fat was administered between 60 and 7 d before calving. The present study differs from these because the fat diet was fed during the last 4 wk of first lactation and the whole dry period (84 d). Examination of the effect of dietary energy density in studies with fat feeding prepartum on DMI and milk production yields contradictory results. When energy density was similar to that of the control group, DMI and EI were reduced prepartum (Moallem et al., 2007a; Petit et al., 2007) and postpartum (Moallem et al., 2007b), which agrees with the present findings, or unaltered pre- and postpartum (Douglas et al., 2004; Andersen et al., 2008). In line with EI, milk yield in the subsequent lactation was reduced (Moallem et al., 2007b) or unchanged (Douglas et al., 2004; Andersen et al., 2008). When energy density was higher due to fat supplementation, DMI and EI were lower but milk yield did not differ from control values (Grum et al., 1996), or DMI was unchanged but EI was higher (Skaar et al., 1989). In FD, milk yield and EB were reduced after prepartum fat feeding, which is in line with findings of Moallem et al. (2007b) but disagrees with other studies (Grum et al., 1996; Douglas et al., 2004; Andersen et al., 2008).

It has been shown that especially unsaturated FA depress DMI intake with negative effects on milk yield (Bremmer et al., 1998; Harvatine and Allen, 2006; Douglas et al., 2007; Moallem et al., 2007b), which was not found in the study of Anderson et al. (2008). Unsaturated FA in the dietary fat used in our study accounted for ~50% of total FA. Taking into account that during the dry period FD cows were provided with about 280 to 480 g of rumen-protected fat per day, which corresponded to 135 and 238 g of unsaturated long-chain FA (LCFA) per day during far-off and close-up periods, respectively, this is comparable to unsaturated LCFA intakes in other studies reporting reduced DMI (Douglas et al., 2007; Moallem et al., 2007a). Allen (2000) reported that fat supplements consisting of Ca salts of palm oil, similar to the fat used in our study, reduce DMI in about 50% of the studies. In this context, it is noteworthy that FD cows showed increased prepartum plasma NEFA concentrations, which might be a caus-





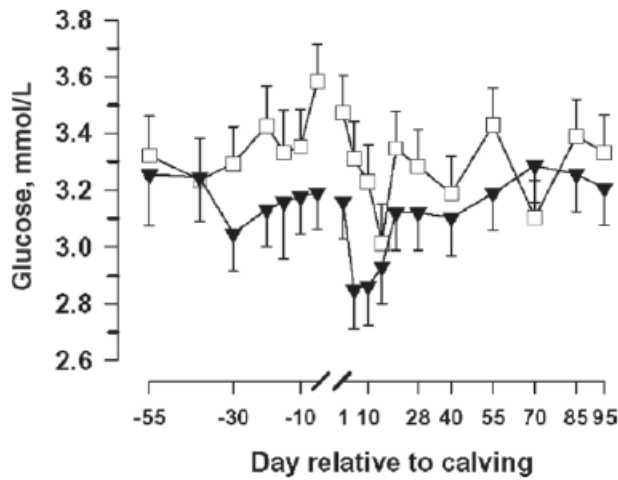
**Figure 2.** Least squares means of pre- and postpartum plasma concentrations of triacylglycerol (A), NEFA (B), BHBA (C), and cholesterol (D) of cows fed a diet with rumen-protected fat (▼) or control diet (□) during the last trimester of gestation.

ative factor for the observed lower DMI during this period (Ingvarthsen and Andersen, 2000; Allen et al., 2005). It was shown that LCFA also in ruminants act as signals of satiety and energy status to the brain mediated in part via increased secretion of cholecystokinin and glucagon-like peptide-1 (Bradford et al., 2008).

The reasons for the effects on EI and milk yield in the FD cows during subsequent lactation are unknown but might be related to the long duration of prepartum fat feeding (i.e., the last trimester of pregnancy). Because prepartum diets were targeted to be isoenergetic, it might be that the lower DMI and EI during the far-off period were causatively related to the higher prepartum plasma NEFA concentrations in FD. Lower plasma glucose levels in fat-fed cows throughout the observation period could have been limiting mammary glucose supply and thus lactose production. Another potential explanation might be related to differences in remodeling of mammary epithelial cells of the 2 groups of cows in late pregnancy. Growth hormone and IGF-1 and IGF binding proteins are involved in mammary gland involution during which senescent mammary epi-

thelial cells are replaced with newly established cells by apoptosis and proliferation (Baumrucker and Erondu, 2000; Accorsi et al., 2002). Plasma IGF-1 is a function of EI, decreases prepartum, and is inversely related with NEFA concentration (Vandehaar et al., 1999; Radcliff et al., 2003). Thus, although we have not measured IGF systems in the present study, we speculate that in FD cows due to lower EI during the far-off period or specific effects of prepartum dietary fat, the number of renewed mammary secretory cells may be lower, leading to a reduced capacity for milk production in the next lactation.

Evaluation of the metabolic variables recorded prepartum revealed higher plasma TAG in the FD group until 10 d postpartum, which mirrors the acute effect of fat feeding and is consistent with increased LCFA small intestinal absorption (Palmquist and Conrad, 1978; Lough et al., 1988). Upon calving, supplemental dietary fat intake ceased but plasma TAG remained higher than in the CD group for 10 d. Plasma lipoproteins carrying large amounts of TAG are chylomicrons during the postprandial state and VLDL secreted by

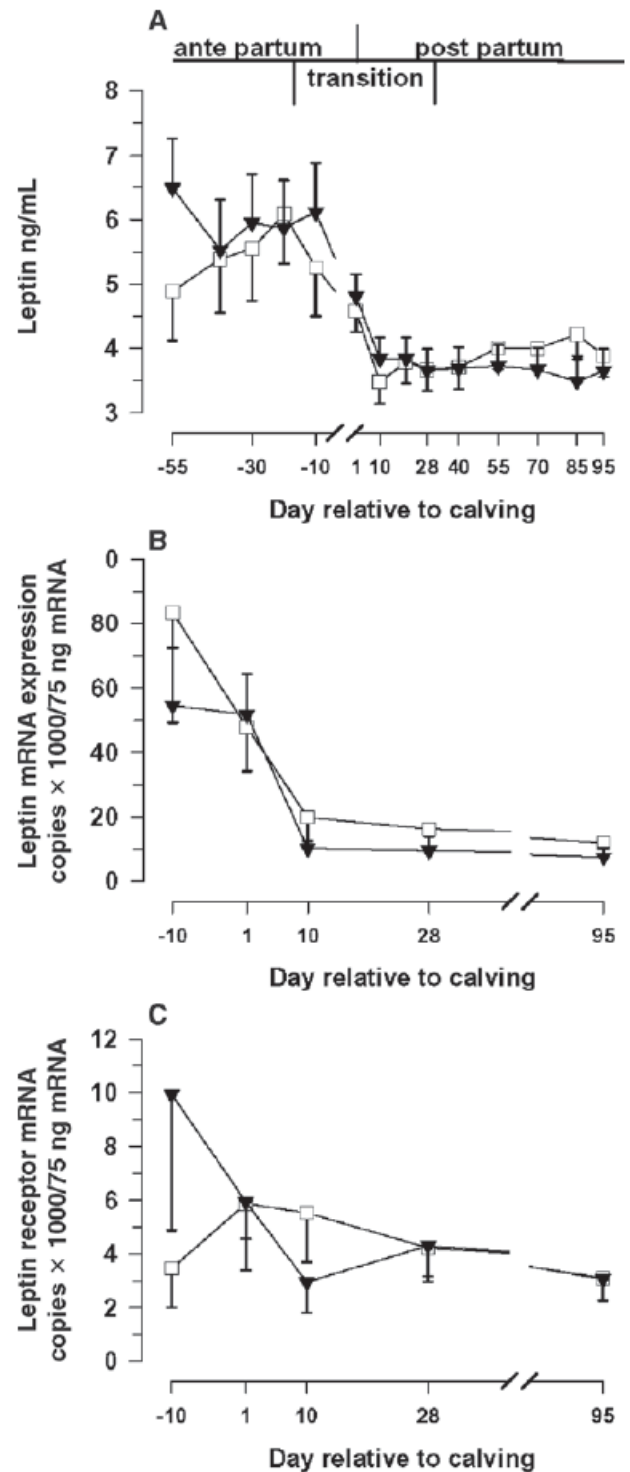


**Figure 3.** Least squares means of pre- and postpartum plasma glucose concentrations of cows fed a diet with rumen-protected fat (▼) or control diet (□) during the last trimester of gestation.

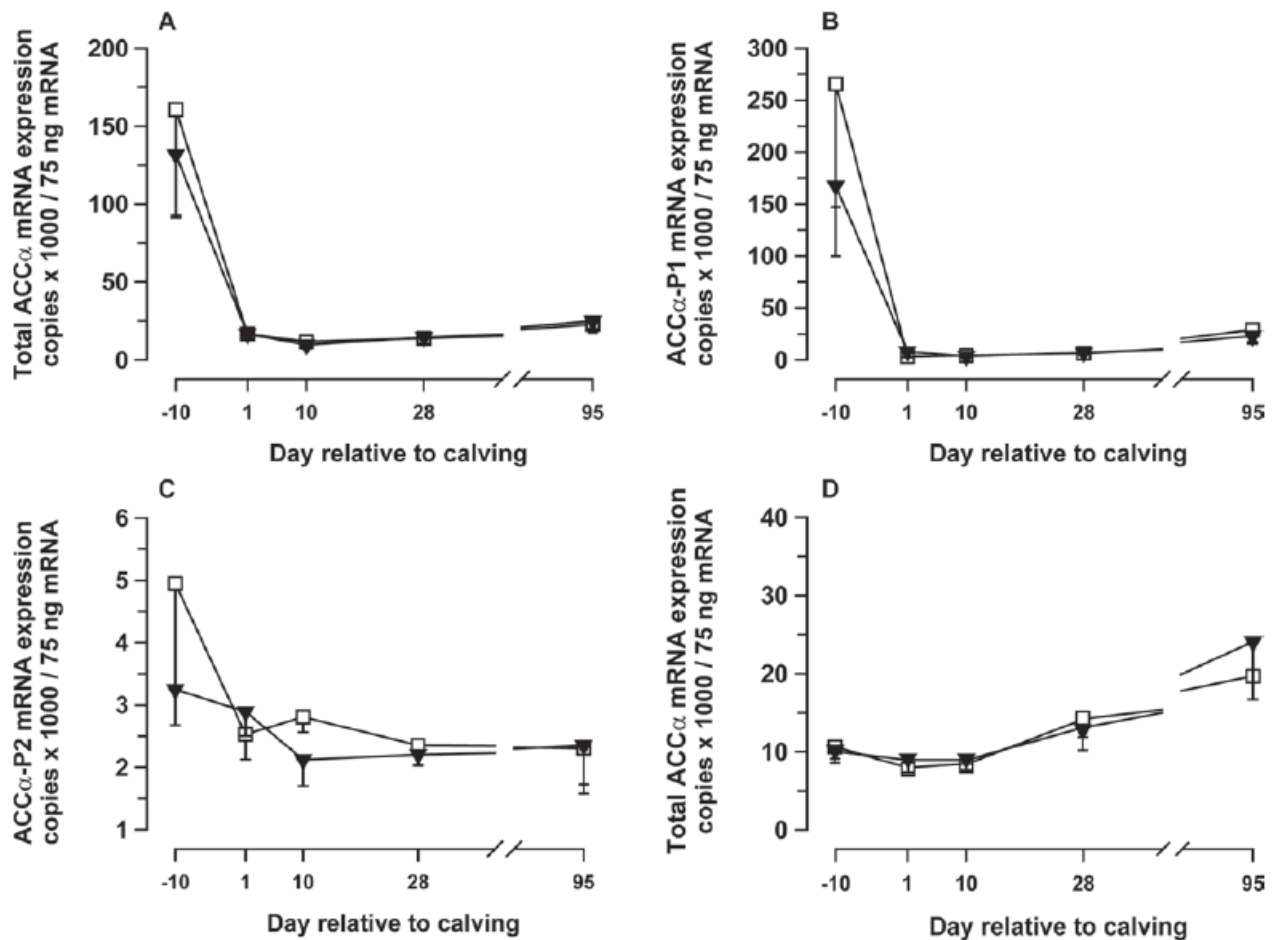
the liver. Thus, although plasma TAG prepartum are probably due to chylomicrons, the transient persistence of increased plasma TAG may indicate an increased secretion of hepatic TAG via VLDL. However, ruminant animals have a known low rate of VLDL secretion (Kleppe et al., 1988) and a high VLDL turnover rate, which makes increased VLDL an unlikely explanation.

Higher plasma cholesterol values prepartum in FD cows confirm earlier results in dairy cows intragastrically infused or fed with supplemental fat (Bremmer et al., 1998; Douglas et al., 2007; Andersen et al., 2008). As shown for ruminants and monogastric animals, this is presumably caused by increased intestinal and hepatic cholesterol synthesis because the fat used in this study did not contain cholesterol (Coleman et al., 1960; Nestel et al., 1978; Grummer and Carroll, 1988). Higher plasma cholesterol values in FD cows persisted postpartum, which is in line with results of Douglas et al. (2007). Because lactation diet contained the same fat source for all cows, which was free of cholesterol, increased plasma cholesterol values might be due to high-density lipoproteins, as well as low-density lipoproteins and lipoprotein remnant particles derived from VLDL metabolism (Grummer and Carroll, 1988). Bernabucci et al. (2004) reported higher plasma cholesterol levels after parturition and increases of apolipoprotein E and plasma high-density lipoprotein percentage from pre- to postcalving, whereas hepatic apolipoprotein B<sub>100</sub> and plasma VLDL percentage decrease. This might suggest alterations of posthepatic lipoprotein metabolism in cows fed fat prepartum.

Indicators of body fat mobilization and ketogenesis, such as BFT, plasma NEFA, and BHBA, exhibited no



**Figure 4.** Least squares means of pre- and postpartum plasma leptin concentration (A) and mRNA expression of leptin (B) and leptin receptor (C) in s.c. fat of cows fed a diet with rumen-protected fat (▼) or control diet (□) during the last trimester of gestation.

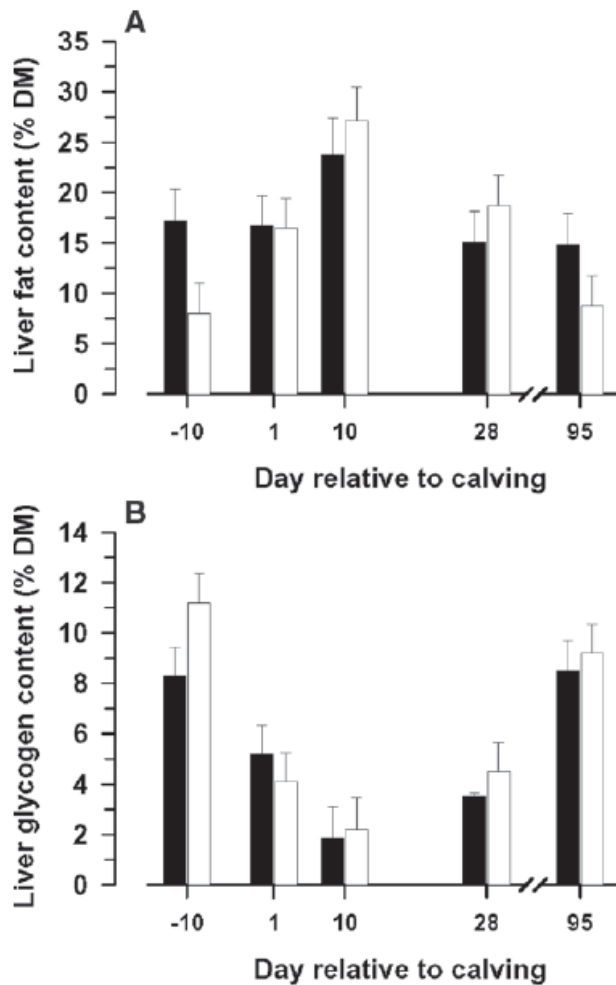


**Figure 5.** Least squares means of pre- and postpartum mRNA expression of total acetyl-coenzyme A carboxylase  $\alpha$  (ACC $\alpha$ ; A), ACC $\alpha$  promoter 1 (ACC $\alpha$ -P1; B), ACC $\alpha$  promoter 2 (ACC $\alpha$ -P2; C) in s.c. fat and total ACC $\alpha$  in liver tissue (D) of cows fed a diet with rumen-protected fat (▼) or control diet (□) during the last trimester of previous gestation. Note different scaling of y-axis in the panels.

diet-dependent difference during the postpartal period. However, before parturition, plasma NEFA concentrations were higher, and plasma BHBA concentrations were lower in the FD group. That plasma NEFA concentration prepartum is increased with fat feeding has been reported previously (Skaar et al., 1989; Grum et al., 1996; Douglas et al., 2007; Andersen et al., 2008). This is likely due to an increased activity of lipoprotein lipase, which released LCFA from chylomicron-derived TAG without increased disposal of LCFA in peripheral tissues. In periparturient cows, it was shown that the increase of plasma NEFA as a reflection of body fat mobilization and insufficient FA oxidation is associated with hepatic lipid accumulation (Vazquez-Añon et al., 1994), and 1 study reported elevated liver lipids at parturition in cows fed high-fat diets for 19 wk during the previous mid to late lactation (Vazquez-Añon et

al., 1997). We found a numerically increased hepatic lipid accumulation (17 vs. 8%) and a higher liver fat-to-glycogen ratio prepartum in FD as compared with CD cows but not postpartum. No difference of hepatic lipid content as compared with control values before parturition was found by Grum et al. (1996) and Andersen et al. (2008) when feeding fat prepartum. However, Grum et al. (1996) reported lower liver lipid concentrations postpartum when fat was supplied prepartum, whereas this was only found with saturated fat by Anderson et al. (2008). Interestingly, Andersen et al. (2008) did not observe increased hepatic LCFA oxidation in spite of reduced liver TAG content when polyunsaturated LCFA were fed but found indications for increased hepatic generation of acetyl-coenzyme A (ketogenesis) in the fat-supplemented group prepartum. In contrast, others did not observe differences in liver lipid con-





**Figure 6.** Least squares means of pre- and postpartum liver fat (A) and liver glycogen content (B) of cows fed a diet with rumen-protected fat (filled columns) or control diet (open columns) during the last trimester of gestation.

centration due to prepartum fat and suggested that a lower nutrient intake prepartum could explain the findings of Grum et al. (1996) (Douglas et al., 2004). Thus, our observations confirm those of others (Douglas et al., 2004, 2007) and are in contrast to the proposition that a high-fat diet prepartum could adapt the liver for oxidative LCFA disposal and decreased hepatic lipid accumulation (Grum et al., 1996; Andersen et al., 2008). However, due to the high variability of liver fat in our study, this conclusion should be considered with caution.

That fat feeding prepartum does not increase BHBA concentrations prepartum has been shown before (Grum et al., 1996; Douglas et al., 2004, 2006) and is likely an effect of the reduced carbohydrate supply as compared

with the CD control group, which might have caused higher concentrations of ruminal butyrate, which is converted to BHBA in the rumen wall (Sutton, 1985).

Hepatic gluconeogenesis can be negatively affected by LCFA (Mashek and Grummer, 2003). Thus, the observed reduced plasma glucose concentrations prepartum may be due to a reduced gluconeogenesis rate or a reduced carbohydrate supply, or both. Whether a possibly impaired hepatic gluconeogenesis rate persists and can thus explain the reduced plasma glucose concentrations postpartum is subject to further investigation. However, we recently found no difference in glucose production but lower plasma glucose in dairy cows fed the same rumen-protected fat as in the present study (Hammon et al., 2008). Another explanation might be that glucose was used for milk fat synthesis.

Leptin is a signal from energy stores to the hypothalamus and is involved in food-intake regulation and energy homeostasis. Leptin is mainly produced in white adipose tissue and thus reflects body fatness (Chilliard et al., 2005). In line with the course of BFT, plasma leptin exhibited no diet-dependent difference but declined from pre- to postpartum, which is in accordance with recent reports (Holtenius et al., 2003; Reist et al., 2003; Hachenberg et al., 2007). Feeding of oil or palm oil Ca salts in early, mid, or late lactating cows or from 20 d before until 75 d postpartum did not alter plasma leptinemia, which is in accordance with the results of the present study (Chilliard et al., 2005; Becu-Villalobos et al., 2007). Plasma leptin seems to be directly associated with dietary energy level (Holtenius et al., 2003; Reist et al., 2003). Because there was no dramatic difference in EI in our study, plasma leptin was not affected by the prepartum diet. The decreases in leptinemia and leptin mRNA abundance in early lactation were in accordance with the beginning fat mobilization during transition and with the course of BFT decrease. The results appear to exclude an effect of macronutrient composition prepartum on leptin receptor mRNA in s.c. fat.

The rate-limiting enzyme of FA synthesis, ACC $\alpha$ , was shown to be downregulated by restricted EI and upregulated by the supply of glucogenic substrates in s.c. fat of sheep (Moibi et al., 2000; Lee and Hossner, 2002). Thus, one would expect higher transcript levels in the CD group, which were not seen in periparturient cows of this study. Transcript levels of ACC $\alpha$  and those derived from the most relevant promoter, ACC $\alpha$ -P1, in s.c. fat decreased dramatically from -10 d until +1 d relative to parturition. The abundance of transcripts derived from ACC $\alpha$ -P2 also decreased prepartum but to a much lesser extent. The data show for the cow that in adipose tissue, ACC $\alpha$ -P1 activity is regulated to a much larger extent than the activity of ACC $\alpha$ -P2. This is in line with previous claims that ACC $\alpha$ -P1 would

be the nutritionally regulated promoter and ACC $\alpha$ -P2 representing the housekeeping promoter (Mao et al., 2001; Mao and Seyfert, 2002). However, because the activity of ACC $\alpha$ -P2 is also reduced, it is clear that the metabolic reprogramming peripartum reduces the activity of both ACC $\alpha$  promoters in adipose tissue of the cow. These findings are in line with previous reports from rats and cows that ACC $\alpha$  mRNA abundance in adipose tissue decreases dramatically from pre- to postpartum (Ponce-Castaneda et al., 1991; Doepel et al., 2002; Sumner et al., 2008), indicating that FA synthesis in s.c. fat is shut off immediately at parturition irrespective of dietary nutrient composition. It is known from cattle that the major site for FA synthesis is adipose tissue, and not liver. We find that the total ACC $\alpha$  mRNA concentration in the liver is low as expected and largely unaffected by the metabolic changes during the transition phase but increases between 10 and 95 d postpartum. Although we have not measured mammary gland ACC $\alpha$ , our finding that milk fat in the FD group had a lower content of C14:0 FA at all time points measured suggests a lower FA synthesis. Almost all milk C4:0 to C14:0 FA are derived from de novo synthesis in mammary epithelial cells, and it has been shown that fat supplementation during established lactation reduces medium-chain FA in milk fat (DePeters et al., 1989; Beaulieu and Palmquist, 1995). Because in the FD group milk fat percentage was higher, this suggests that less milk FA originate from de novo synthesis but rather stem from body fat, which would agree with the higher levels of C16:1 in milk fat observed in that group.

### CONCLUSIONS

Our present findings indicate that prepartum supplementation with Ca salts of palmitic and oleic acids in dairy cows results in EI depression prepartum, which was associated with reduced milk yield, a depressed EI, and a reduced EB during the first 4 wk of subsequent lactation. The data provide no indications for changes in regard to lipid mobilization postpartum and liver lipid accumulation. However, the relatively small number of cows per treatment and the large variation of liver fat values demand that these data be interpreted with caution. We speculate that lower EI during the far-off period or specific effects of prepartum fat may have lowered the number of renewed mammary secretory cells, leading to a reduced capacity for milk production in the next lactation. It cannot be excluded that EI affected lactation variables to a similar degree than prepartum fat feeding. Metabolic effects of fat feeding prepartum largely agree with earlier reports with the exception that increased plasma TAG and cholesterol

and decreased plasma glucose persist during early lactation. In line with previous reports, the activity of total ACC $\alpha$  and both ACC $\alpha$  promoters in adipose tissue is dramatically reduced from pre- to postpartum. The results appear to exclude an effect of macronutrient composition prepartum on leptin, leptin receptor, total ACC $\alpha$ , and ACC $\alpha$  promoter transcript levels in s.c. fat during transition. In conclusion, feeding a diet containing rumen-protected fat for 12 wk during late lactation and dry period until calving negatively affected DMI, EB, and milk yield during subsequent lactation and was not beneficial in regard to liver lipid accumulation.

### ACKNOWLEDGMENTS

We thank the technical staff of the Research Institute for the Biology of Farm Animals (FBN) research units "Nutritional Physiology" and "Molecular Biology" as well as to Gunter Klautschek and the animal care takers of the FBN for excellent technical assistance. The Rinderzuchtverband Mecklenburg-Vorpommern is acknowledged for logistic support with selection of cows. The study was supported by a grant of the Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bonn, Germany, to H. M. S. and C. C. M. (SE 326/13-2), and the core budget of the FBN.

### REFERENCES

- Accorsi, P. A., B. Pacioni, C. Pezzi, M. Forni, D. J. Flint, and E. Seren. 2002. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 85:507-513.
- Ainslie, D. A., J. Proietto, B. C. Fam, and A. W. Thorburn. 2000. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:438-442.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598-1624.
- Allen, M. S., B. J. Bradford, and K. J. Harvatine. 2005. The cow as a model to study food intake regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 25:523-547.
- Andersen, J. B., C. Ridder, and T. Larsen. 2008. Priming the cow for mobilization in the periparturient period: Effects of supplementing the dry cow with saturated fat or linseed. *J. Dairy Sci.* 91:1029-1043.
- Baumrucker, C. R., and N. E. Erondy. 2000. Insulin-like growth factor system in the bovine mammary gland and milk. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 5:53-64.
- Beaulieu, A. D., and D. L. Palmquist. 1995. Differential effects of high fat diets on fatty acid composition in milk of Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 78:1336-1344.
- Becu-Villalobos, D., I. Garcia-Tornadu, G. Shroeder, E. E. Salado, G. Gagliostro, C. C. Delavaud, Y. Chilliard, and I. M. Lacau-Mengido. 2007. Effect of fat supplementation on leptin, insulin-like growth factor 1, growth hormone, and insulin in cattle. *Can. J. Vet. Res.* 71:218-225.
- Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73:2804-2819.
- Bernabucci, U., L. Basirico, N. Lacetera, P. Morera, B. Ronchi, P. A. Accorsi, E. Seren, and A. Tardone. 2006. Photoperiod affects gene expression of leptin and leptin receptors in adipose tissue from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:4678-4686.



- Bernabucci, U., B. Ronchi, L. Basirico, D. Piazzi, F. Rueca, N. Lacetera, and A. Tardone. 2004. Abundance of mRNA of apolipoprotein B<sub>100</sub>, apolipoprotein E, and microsomal triglyceride transfer protein in liver from periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2881–2888.
- Beutler, H. O. 1984. Pages 2–10 in *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd. ed. Vol. VI. H. U. Bergmeyer, ed. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.
- Bradford, B. J., K. J. Harvatine, and M. S. Allen. 2008. Dietary unsaturated fatty acids increase plasma glucagon-like peptide-1 and cholecystokinin and may decrease premeal ghrelin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:1443–1450.
- Bremner, D. R., L. D. Ruppert, J. H. Clark, and J. K. Drackley. 1998. Effects of chain length and unsaturation of fatty acid mixtures infused into the abomasums of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:176–188.
- Cha, M. C., and P. J. H. Jones. 1998. Dietary type and energy restriction interactively influence plasma leptin concentration in rats. *J. Lipid Res.* 39:1655–1660.
- Chelikani, P. K., D. R. Glimm, and J. J. Kennelly. 2003. Short communication: Tissue distribution of leptin and leptin receptor mRNA in the bovine. *J. Dairy Sci.* 86:2369–2372.
- Chilliard, Y., C. Delavaud, and M. Bonnet. 2005. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29:3–22.
- Chilliard, Y., G. Gagliostro, J. Flechet, J. Lefaivre, and I. Sebastian. 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. *J. Dairy Sci.* 74:1844–1854.
- Coleman, I. W., and J. M. R. Beveridge. 1960. The effect of dietary fat and the repeated withdrawal of small samples of blood on plasma cholesterol levels in the rat. *J. Nutr.* 71:303–309.
- Coppock, C. E., and D. L. Wilks. 1991. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J. Anim. Sci.* 69:3826–3837.
- DePeters, E. J., S. J. Taylor, and R. L. Baldwin. 1989. Effect of dietary fat in isocaloric rations on the nitrogen content of milk from Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72:2949–2957.
- Doepel, L., H. Lapiere, and J. J. Kennelly. 2002. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85:2315–2334.
- Douglas, G. N., T. R. Overton, H. G. Bateman II, H. M. Dann, and J. K. Drackley. 2006. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 89:2141–2157.
- Douglas, G. N., T. R. Overton, H. G. Bateman, and J. K. Drackley. 2004. Peripartal metabolism and production of Holstein cows fed diets supplemented with fat during the dry period. *J. Dairy Sci.* 87:4210–4220.
- Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa, and J. K. Drackley. 2007. Prepartum nutrition alters fatty acid composition in plasma, adipose tissue, and liver lipids of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2941–2959.
- Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci.* 82:2259–2273.
- German Society of Nutrition Physiology. 2001. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, No. 8. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder (Recommended energy and nutrient supply for dairy cows and growing cattle). DLG-Verlag Frankfurt a. Main, Germany.
- Goff, J. P., and R. L. Horst. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80:1260–1268.
- Goldammer, T., H. Zerbe, A. Molenaar, H.-J. Schuberth, R. M. Brunner, S. R. Kata, and H.-M. Seyfert. 2004. Mastitis increases mammary mRNA abundance of  $\beta$ -defensin 5, Toll-like receptors 2 and 4 (TLR2, TLR4) but not TLR9 in cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11:174–185.
- Grum, D. E., J. K. Drackley, R. S. Younker, D. W. LaCount, and J. J. Veenhuizen. 1996. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1850–1864.
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3882–3896.
- Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73:2820–2833.
- Grummer, R. R., and D. J. Carroll. 1988. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: Importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.* 66:3160–3173.
- Grummer, R. R., P. C. Hoffman, M. L. Luck, and S. J. Bertics. 1995. Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 78:172–180.
- Hachenberg, S., C. Weinkauff, S. Hiss, and H. Sauerwein. 2007. Evaluation of classification modes potentially suitable to identify metabolic stress in healthy dairy cows during the periparturient period. *J. Anim. Sci.* 85:1923–1932.
- Hammon, H. M., C. C. Metges, P. Junghans, F. Becker, O. Bellmann, F. Schneider, G. Nürnberg, P. Dubreuil, and H. Lapiere. 2008. Metabolic changes and net portal flux in dairy cows fed a ration containing rumen-protected fat as compared to a control diet. *J. Dairy Sci.* 91:207–217.
- Harvatine, K. J., and M. S. Allen. 2006. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1104–1112.
- Holtenius, K., S. Agenäs, C. Delavaud, and Y. Chilliard. 2003. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J. Dairy Sci.* 86:883–891.
- Ingvartsen, K. L., and J. B. Andersen. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83:1573–1597.
- Jenkins, T. C., and M. A. McGuire. 2006. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J. Dairy Sci.* 89:1302–1310.
- Kleppe, B. B., R. J. Aiello, R. R. Grummer, and L. E. Armentano. 1988. Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro. *J. Dairy Sci.* 71:1813–1822.
- Kuhla, S., M. Klein, U. Renne, W. Jentsch, P. E. Rudolph, and W. B. Souffrant. 2004. Carbon and nitrogen content based estimation of the fat content of animal carcasses in various species. *Arch. Anim. Nutr.* 58:37–46.
- Lee, S. H., and K. L. Hossner. 2002. Coordinate regulation of ovine adipose tissue gene expression by propionate. *J. Anim. Sci.* 80:2840–2849.
- Lough, D. S., L. D. Muller, R. S. Kensinger, T. F. Sweeney, and L. C. Griel Jr. 1988. Effect of added dietary fat and bovine somatotropin on the performance and metabolism of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:1161–1169.
- Mao, J., S. Marcos, S. K. Davis, and H.-M. Seyfert. 2001. Genomic arrangement of the three promoters expressing the bovine acetyl-CoA-carboxylase- $\alpha$ -encoding gene and evidence that the nutritionally regulated PI contains a repressive element different from that in rat. *Biochem. J.* 358:127–135.
- Mao, J., and H.-M. Seyfert. 2002. Promoter II of the bovine acetyl-coenzyme A carboxylase  $\alpha$ -encoding gene is widely expressed and strongly active in different cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1576:324–329.
- Mashek, D. G., and R. R. Grummer. 2003. Effects of long chain fatty acids on lipid and glucose metabolism in monolayer cultures of bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 86:2390–2396.
- McNamara, J. P., J. H. Harrison, R. L. Kincaid, and S. S. Waltner. 1995. Lipid metabolism in adipose tissue of cows fed high fat diets during lactation. *J. Dairy Sci.* 78:2782–2796.
- Moallem, U., A. Arieli, and H. Lehrer. 2007a. Effects of prepartum propylene glycol or fats differing in fat acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:3846–3856.
- Moallem, U., M. Katz, H. Lehrer, L. Livshitz, and S. Yakoby. 2007b. Role of prepartum dietary propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. *J. Dairy Sci.* 90:1243–1254.

- Moibi, J. A., E. D. Ekpe, and R. J. Christopherson. 2000. Acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase activity and immunodetectable protein in adipose tissues of ruminants: Effect of temperature and feeding level. *J. Anim. Sci.* 78:2383–2392.
- Naumann, C., and R. Bassler. 1993. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.
- Nestel, P. J., A. Poyser, R. L. Hood, S. C. Mills, M. R. Willis, L. J. Cook, and T. W. Scott. 1978. The effect of dietary fat supplements on cholesterol metabolism in ruminants. *J. Lipid Res.* 19:899–909.
- Palmquist, D. L., A. D. Beaulieu, and D. M. Barbano. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76:1753–1771.
- Palmquist, D. L., and H. R. Conrad. 1978. High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. *J. Dairy Sci.* 61:890–901.
- Petit, H. V., M. F. Palin, and L. Doepel. 2007. Hepatic lipid metabolism in transition dairy cows fed flaxseed. *J. Dairy Sci.* 90:4780–4792.
- Ponce-Castaneda, M. V., F. Lopez-Casillas, and K.-H. Kim. 1991. Acetyl-coenzyme A carboxylase messenger ribonucleic acid metabolism in liver, adipose tissue, and mammary glands during pregnancy and lactation. *J. Dairy Sci.* 74:4013–4021.
- Radcliff, R. P., B. L. McCormack, B. A. Crooker, and M. C. Lucy. 2003. Growth hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1A mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3933–3940.
- Reist, M., D. K. Erdin, D. van Eeuw, K. M. Tschuemperlin, H. Leuenberger, C. Delavaud, Y. Chilliard, H. M. Hammon, N. Kuenzi, and J. W. Blum. 2003. Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: Metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *J. Dairy Sci.* 86:1690–1706.
- SAS Institute. 1999. SAS User's Guide: Statistics. Version 8.2 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sauerwein, H., U. Heintges, M. Hennies, T. Selhorst, and A. Daxenberger. 2004. Growth hormone induced alterations of leptin serum concentrations in dairy cows as measured by a novel enzyme immunoassay. *Livest. Prod. Sci.* 87:189–195.
- Schröder, U. J., and R. Staufenbiel. 2006. Invited review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *J. Dairy Sci.* 89:1–14.
- Skaar, T. C., R. R. Grummer, M. R. Dentine, and R. H. Stauffacher. 1989. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* 72:2028–2038.
- Sumner, J., C. Shachtschneider, J. Vierck, and J. McNamara. 2008. Changes in the transcriptome of adipose tissue of the dairy heifer during late pregnancy and lactation as measured by gene array analysis: Changes in specific metabolic control genes. *J. Dairy Sci.* 91(E. Suppl. 1):313. (Abstr.)
- Sutton, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 68:3376–3393.
- Thorn, S. R., M. J. Meyer, M. E. Van Amburgh, and Y. R. Boisclair. 2007. Effect of estrogen on leptin and expression of leptin receptor transcripts in prepubertal dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 90:3742–3750.
- Vandehaar, M. J., G. Yousif, B. K. Sharma, T. H. Herdt, R. S. Emery, M. S. Allen, and J. S. Liesman. 1999. Effect of energy and protein density of prepartum diets on fat and protein metabolism of dairy cattle in the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 82:1282–1295.
- Van Knegsel, A. T. M., H. Van den Brand, J. Dijkstra, W. M. Van Straalen, M. J. W. Heetkamp, S. Tamminga, and B. Kemp. 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: Energy partitioning and milk composition. *J. Dairy Sci.* 90:1467–1476.
- Vazquez-Añon, M., S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 1997. The effect of dietary energy source during mid to late lactation on liver triglyceride and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:2504–2512.
- Vazquez-Añon, M., S. J. Bertics, M. Luck, R. R. Grummer, and J. Pinheiro. 1994. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1521–1528.
- Vernon, R. G. 2005. Lipid metabolism during lactation: A review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Res.* 72:460–469.
- Voigt, J., S. Kuhla, K. Gaafar, M. Derno, and H. Hagemeyer. 2006. Digestibility of rumen protected fat in cattle. *Slovak J. Anim. Sci.* 39:16–19.

## 4.2 Weitere Ergebnisse

### 4.2.1 Hormone und Metabolite im Blut

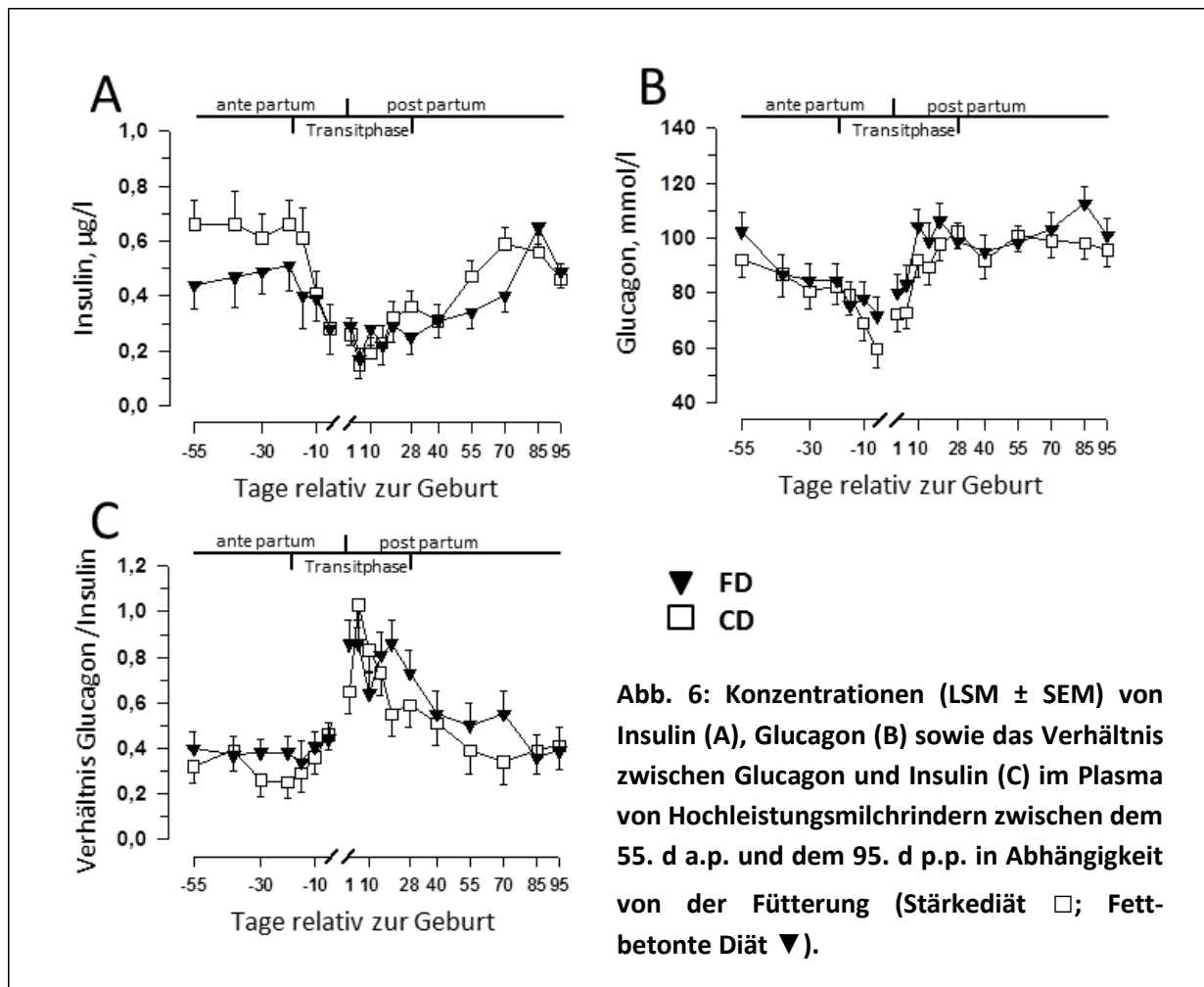
Nachdem in Kapitel 4.1 bereits der Einfluss der Fettfütterung im letzten Trimester der Trächtigkeit auf die Stoffwechselfparameter NEFA, BHB, Glucose, TAG, Leptin und Cholesterol im Detail beschrieben worden sind, findet sich im folgenden Kapitel die Darstellung der Plasmakonzentrationen von Insulin, Glucagon, das Verhältnis von Glucagon zu Insulin sowie Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin.

#### 4.2.1.1 Insulin, Glucagon und das Verhältnis von Glucagon zu Insulin

Die Insulinkonzentration (Abb. 6, A) im gesamten Beobachtungszeitraum war in Gruppe FD  $0,37 \pm 0,02 \mu\text{g/l}$  in der Tendenz geringer als in Gruppe CD  $0,43 \pm 0,02 \mu\text{g/l}$  ( $P = 0,09$ ). In der Phase vor der Geburt zeigte die FD-Gruppe eine etwas niedrigere Konzentration als Gruppe CD. Sie unterschieden sich aber nicht signifikant voneinander (FD:  $0,43 \pm 0,05$ ; CD:  $0,55 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ ;  $P = 0,16$ ). Nachdem die Konzentration in beiden Gruppen bis zum 20. d a.p. stabil blieb, fiel sie ab dem 15. d a.p. ab und beide erreichten am 5. d p.p. einen Minimumwert (FD:  $0,17 \pm 0,07$ ; CD:  $0,15 \pm 0,06 \mu\text{g/l}$ ). In der postpartalen Phase lagen die Insulinwerte beider Gruppen auf dem gleichen Konzentrationsniveau (FD:  $0,34 \pm 0,02$ ; CD:  $0,36 \pm 0,02 \mu\text{g/l}$ ;  $P = 0,59$ ).

Die Konzentration von Glucagon betrug im Durchschnitt in der FD- und CD-Gruppe  $92,9 \pm 3,6$  bzw.  $86,6 \pm 3,5 \text{ mmol/l}$  und unterschied sich nicht voneinander ( $P = 0,29$ ) (Abb. 6, B). Im Zeitraum a.p. sank die Glucagonkonzentration in beiden Fütterungsgruppen ab und erreichte jeweils am 5. d a.p. das Minimum, wobei jedoch kein Gruppeneffekt beobachtet werden konnte (FD:  $71,7 \pm 6,9$ ; CD:  $59,5 \pm 6,6 \text{ mmol/l}$ ;  $P = 0,99$ ).

Während der 150-tägigen Untersuchungsperiode lag das Verhältnis von Glucagon zu Insulin in der Gruppe FD bei  $0,55 \pm 0,04$  mmol/l und in der Gruppe CD bei  $0,48 \pm 0,04$  mmol/l ( $P = 0,34$ ) (Abb. 6, C). Die Verhältnisse in beiden Gruppen zeigten im gesamten Untersuchungszeitraum einen ähnlichen, nicht unterschiedlichen Verlauf.



In den letzten Tagen der Trächtigkeit begann das Glucagon zu Insulin-Verhältnis in beiden Gruppen anzusteigen. In der postpartalen Phase erreichten die Tiere der Gruppe FD das Maximum bereits am Tag nach der Kalbung und Gruppe CD am 5. d p.p.. Der verbleibende Zeitraum bis zum 95. d p.p. war in beiden Gruppen im Wesentlichen durch einen kontinuierlichen Abfall des Verhältnisses von Glucagon zu Insulin gekennzeichnet.

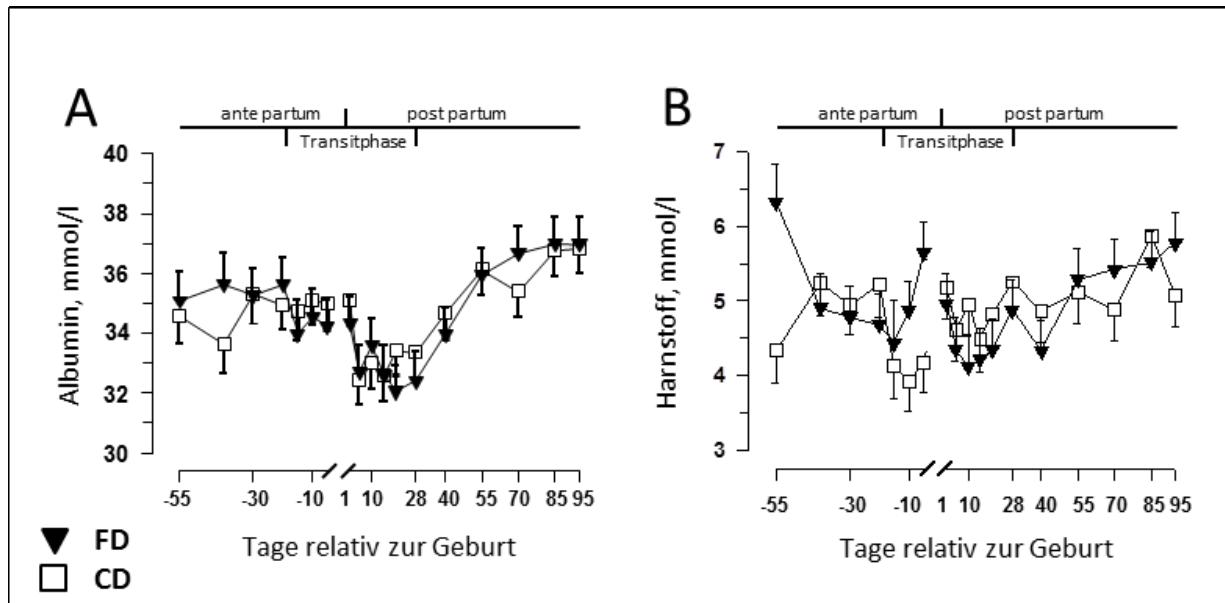
**Tab. 5: Fütterungs- und Zeiteffekte auf die Hormone Insulin und Glucagon im Plasma sowie das Verhältnis von Glucagon und Insulin vor und nach dem Kalben**

<b>Zeitraum Effekt</b>	<b>Gesamt 55 d a.p. - 95 d p.p.</b>	<b>Transitphase 20 d a.p. - 28 d p.p.</b>	<b>Ante partum 55 d a.p. - 0</b>	<b>Post partum 0 – 95 d p.p.</b>
<b>Insulin</b>				
Gruppe	0,09	0,18	0,16	0,59
Tag	<0,0001	<0,0001	0,004	<0,0001
Gruppe x Tag	0,71	0,43	0,79	0,39
<b>Glucagon</b>				
Gruppe	0,29	0,19	0,53	0,35
Tag	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Gruppe x Tag	0,89	0,83	0,81	0,76
<b>Verhältnis von Glucagon zu Insulin</b>				
Gruppe	0,34	0,31	0,42	0,48
Tag	<0,0001	<0,0001	0,30	<0,0001
Gruppe x Tag	0,48	0,30	0,82	0,27

#### 4.2.1.2 Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin

Während des Beobachtungszeitraums unterschied sich die Albuminkonzentration zwischen den Fütterungsgruppen nicht. Die mittlere Konzentration lag in allen Kühen bei  $34,6 \pm 0,52$  mmol/l ( $P = 0,98$ ) (Abb. 7, A). Fütterungsbedingte Unterschiede waren hinsichtlich der Albuminkonzentration nicht zu beobachten. Während vor dem Kalben die Konzentrationen konstant blieben (FD:  $35,2 \pm 0,56$ ; CD:  $34,7 \pm 0,56$  mmol/l;  $P = 0,63$ ), fielen sie innerhalb der ersten 28 Tage nach dem Kalben auf ein Niveau unterhalb des vorgeburtlichen Konzentrationslevels ab.

Auch die Harnstoffkonzentration blieb unbeeinflusst von der Fütterung (FD  $4,93 \pm 0,25$ ; CD  $4,83 \pm 0,25$  mmol/l;  $P = 0,80$ ) (Abb. 7, B). Direkt vor der Kalbung verhielten sich die Fütterungsgruppen entgegengesetzt. Während in der Gruppe FD die Konzentration am 15. d a.p. deutlich anstieg, fiel die Konzentration in Gruppe CD ab. Die Harnstoffkonzentrationen in den einzelnen Beobachtungsphasen waren im Hinblick auf die Fütterung nicht verschieden (Transitphase:  $P = 0,89$ ; a.p.:  $P = 0,34$ ; p.p.:  $P = 0,91$ ). Zusätzlich ergaben sich bei der Berechnung der Interaktionen zwischen Gruppe und Tag signifikante Unterschiede für Gruppe FD am 55. d a.p. und folgenden Gruppe/Tag-Kombinationen: Gruppe FD am 20. d a.p. ( $P = 0,04$ ); Gruppe CD am 15. d a.p. ( $P = 0,04$ ); Gruppe CD am 10. d a.p. ( $P = 0,01$ ) und Gruppe CD am 5. d a.p. ( $P = 0,05$ ).



**Abb. 7:** Konzentrationen (LSM  $\pm$  SEM) von Albumin (A) und Harnstoff (B) im Plasma von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 55. d a.p. und dem 95. d p.p. in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät  $\square$ ; Fett-betonte Diät  $\blacktriangledown$ ).

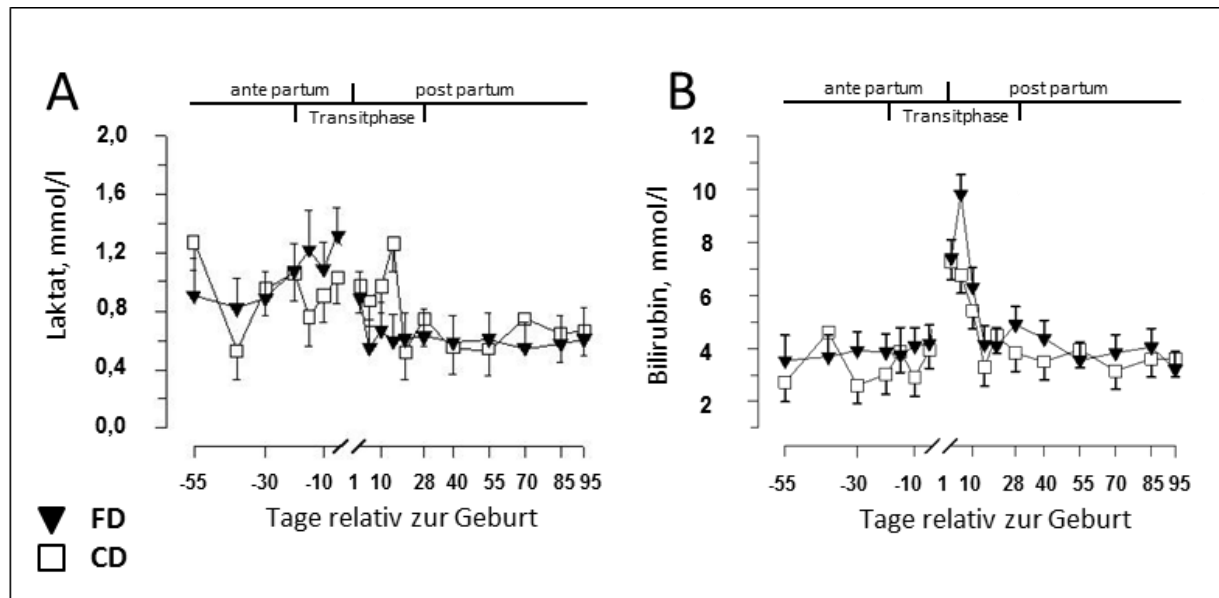
Sowohl über den gesamten Zeitraum betrachtet als auch in den einzelnen Zeitabschnitten unterschieden sich die Laktatkonzentrationen zwischen den Fütterungsgruppen nicht (FD:  $0,79 \pm 0,09$ ; CD:  $0,89 \pm 0,09$  mmol/l;  $P = 0,54$ ) (Abb. 8, A). In Gruppe FD war in der Phase vor der Geburt ein konstanter Anstieg von  $0,87 \pm 0,31$  mmol/l am 55. d a.p. auf  $1,29 \pm 0,23$  mmol/l am 5. d a.p. zu erkennen. Bereits am Tag nach dem Kalben begann die Konzentration zu sinken und erreichte am 5. d p.p. mit  $0,56 \pm 0,17$  mmol/l den geringsten Wert im Beobachtungszeitraum. Das Mittel bis zum 95. d p.p. verblieb auf diesem niedrigen Niveau ( $0,62 \pm 0,16$  mmol/l). In Gruppe CD waren vor der Kalbung bis einschließlich 15. d p.p. schwankende Konzentrationen zu beobachten. Ab dem 20. d p.p. verblieb die Laktatkonzentration auf geringem Niveau, vergleichbar mit Gruppe FD. Die postpartale Laktatkonzentration in Gruppe CD lag bei  $1,09$  mmol/l  $\pm 0,14$ .

Auch in Bezug auf die Bilirubinkonzentration konnten keine durch die Fütterung bedingten Unterschiede festgestellt werden (FD:  $4,59 \pm 0,29$ ; CD:  $4,03 \pm 0,29$  mmol/l;  $P = 0,26$ ) (Abb. 8, B). Die Gruppe FD wies in der Zeit vor der Kalbung eine sehr konstante Konzentration auf ( $3,93 \pm 0,26$  mmol/l). Am 1. d p.p. stieg der Gehalt an und erreichte am 5. d p.p. ein Maximum ( $9,76 \pm 0,86$  mmol/l). Nach diesem Anstieg wurde am 15. d p.p. mit  $4,13$



## Ergebnisse

± 0,81 mmol/l der Basalwert erreicht. Der Konzentrationsverlauf in Gruppe CD war vergleichbar.



**Abb. 8:** Konzentrationen (LSM ± SEM) von Laktat (A) und Bilirubin (B) im Plasma von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 55. d a.p. und dem 95. d p.p. in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).

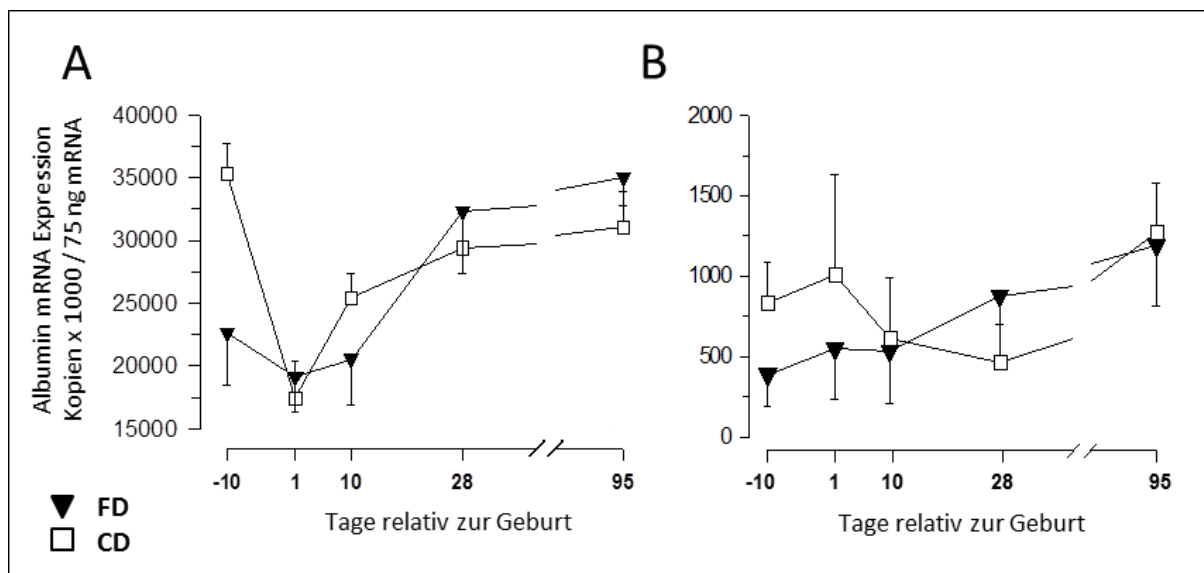
**Tab. 6:** Fütterungs- und Zeiteffekte auf die Konzentrationen von Albumin, Harnstoff, Laktat und Bilirubin im Plasma von Hochleistungsmilchrindern vor und nach dem Kalben

Zeitraum	Gesamt	Transitphase	Ante partum	Post partum
Effekt	55. d a.p. - 95. d p.p.	20. d a.p. - 28. d p.p.	55. d a.p. - 0	0 – 95. d p.p.
<b>Albumin</b>				
Gruppe	0,98	0,29	0,63	0,85
Tag	<0,0001	<0,0001	0,73	<0,0001
Gruppe x Tag	0,89	0,89	0,22	0,90
<b>Harnstoff</b>				
Gruppe	0,80	0,89	0,34	0,91
Tag	0,0005	0,06	0,02	0,002
Gruppe x Tag	0,005	0,005	0,0002	0,61
<b>Laktat</b>				
Gruppe	0,54	0,96	0,73	0,39
Tag	<0,0001	0,04	0,85	0,08
Gruppe x Tag	0,18	0,25	0,23	0,35
<b>Bilirubin</b>				
Gruppe	0,26	0,1	0,18	0,39
Tag	<0,0001	<0,0001	0,26	<0,0001
Gruppe x Tag	0,63	0,69	0,22	0,58

## 4.2.2 mRNA Konzentration in Leber- und Fettgewebe

### 4.2.2.1 Albumin

Auf die mRNA Konzentration von Albumin hat die Fütterung weder im Leber- noch im Fettgewebe einen Einfluss (Leber:  $P = 0,22$ ; Fett:  $P = 0,24$ ). Nachdem im Lebergewebe am 1. d p.p. in beiden Gruppen ein Minimum erreicht worden war, stieg die Kopienanzahl kontinuierlich an (Abb. 9, A), erreichte aber in beiden Fütterungsgruppen keinen signifikanten Unterschied zwischen dem 1. d p.p. und dem 95. d p.p.. Im Fettgewebe lag das Niveau der Kopienanzahl um das 20 – 50-fache niedriger im Vergleich zum Lebergewebe. Gruppe FD zeigte einen stetig ansteigenden Verlauf (Abb. 9, B). Am 95. d p.p. wurde mit  $1.190.221 \pm 372.039$  Kopien/75 ng mRNA das Maximum im Versuchszeitraum erreicht, was eine Verdreifung des Ausgangswertes vom 10. d a.p. darstellte. In der Gruppe CD schwankte die Kopienanzahl im Verlauf des Beobachtungszeitraums und betrug im Mittel  $724.526 \pm 241509$  Kopien/75 ng mRNA.



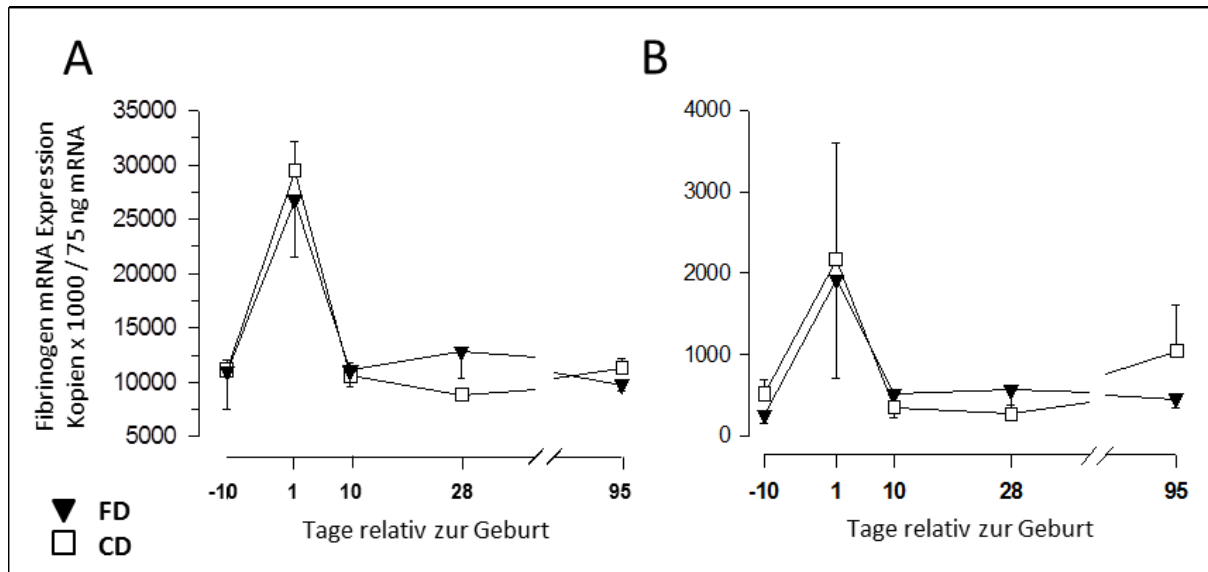
**Abb. 9: Verlauf der mRNA Konzentration von Albumin im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchrindern zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM  $\pm$  SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).**

**Tab. 7: Fütterungs- und Zeiteffekte auf die mRNA Expression von Albumin, Fibrinogen, UCP2 sowie AR2 im Leber- und Fettgewebe von Hochleistungsmilchkühen**

Effekt	Gewebe	
	Leber	Fett
<b>Albumin</b>		
Gruppe	0,22	0,24
Tag	0,004	0,005
Gruppe x Tag	0,22	0,87
<b>Fibrinogen</b>		
Gruppe	0,65	0,32
Tag	<0,0001	0,04
Gruppe x Tag	0,34	0,87
<b>UCP2</b>		
Gruppe	0,1	0,01
Tag	0,11	<0,0001
Gruppe x Tag	0,93	0,85
<b>AR2</b>		
Gruppe	0,41	
Tag	<0,0001	nicht analysiert
Gruppe x Tag	0,79	

#### 4.2.2.2 Fibrinogen

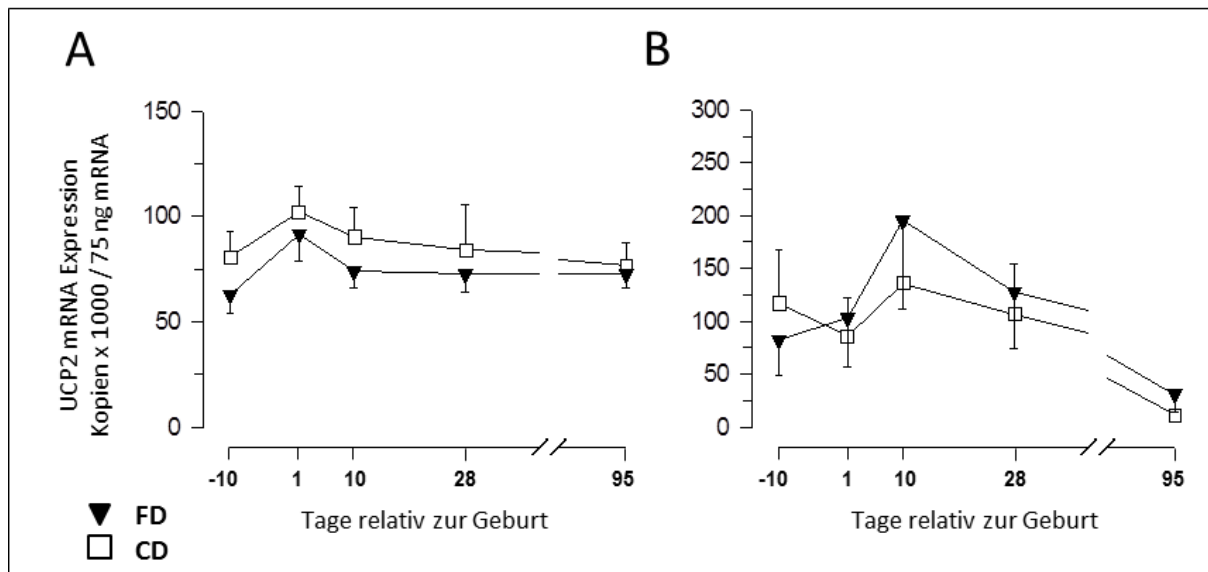
Im Leber- wie auch Fettgewebe unterschied sich die Kopienanzahl von Fibrinogen nicht aufgrund der Fütterung (Leber:  $P = 0,65$ ; Fett:  $P = 0,32$ ) (Abb. 10). Hinsichtlich des Verlaufs ähnelten sich die Fütterungsgruppen wie auch die untersuchten Gewebe. Zum Zeitpunkt der Kalbung (1. d p.p.) stieg die Kopienanzahl stark an. Bereits am darauffolgenden Messpunkt (10. d p.p.) war die Kopienanzahl soweit reduziert, dass das vorgeburtliche Niveau wieder erreicht wurde. Insgesamt lag die Kopienanzahl von Fibrinogen im Lebergewebe um das 10-fache höher als im Fettgewebe.



**Abb. 10:** Verlauf der mRNA Konzentration von Fibrinogen im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM  $\pm$  SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).

#### 4.2.2.3 Uncoupling Protein 2

Die Kopienanzahl von UCP2 im Lebergewebe unterschied sich nicht in Anhängigkeit von der Fütterung ( $P = 0,1$ ) (Abb. 11, A). In beiden Gruppen war am 1. d p.p. jeweils der Maximumwert aller Messzeitpunkte zu verzeichnen. Im Fettgewebe ähnelten sich die Verläufe der beiden Fütterungsgruppen ebenfalls. Dabei wies die CD-Gruppe über den gesamten Zeitraum betrachtet geringere Kopienanzahlen auf (FD:  $107.720 \pm 46.915$ ; CD:  $91.286 \pm 38.463$  Kopien/75 ng mRNA;  $P = 0,01$ ) (Abb. 11, B). Die maximale Kopienzahl im Fettgewebe wurde in beiden Fütterungsgruppen am 10. d p.p. erreicht. Bis zum 95. d p.p. konnte ein kontinuierlicher Abfall beobachtet werden (10. d p.p. vs. 95. d p.p.: FD:  $P = 0,0013$ ; CD:  $P < 0,0001$ ).

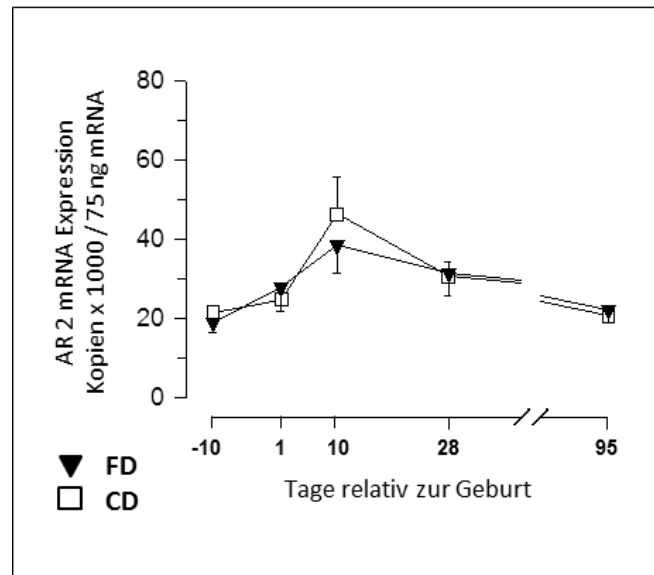


**Abb. 11:** Verlauf der mRNA Konzentration von UCP2 im Lebergewebe (A) und im Fettgewebe (B) von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM± SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät □; Fett-betonte Diät ▼).

#### 4.2.2.4 Adiponektinrezeptor 2

Fütterungsbedingte Unterschiede in der Kopienanzahl des AR2 im Lebergewebe konnten nicht beobachtet werden (FD:  $27.702 \pm 4.908$ ; CD:  $28.675 \pm 1.652$  Kopien/75 ng mRNA;  $P = 0,41$ ) (Abb. 12). In beiden Gruppen war die maximale Kopienanzahl am 10. d p.p. erreicht (FD:  $38.352 \pm 7.073$ ; CD:  $46.208 \pm 9.525$  Kopien/75 ng mRNA). Sie reduzierte sich bis hin zum 95. d p.p. und hatte an diesem Tag das Niveau vom 10. d a.p. wieder erreicht.

## Ergebnisse



**Abb. 12:** Verlauf der mRNA Konzentration von AR2 im Lebergewebe von Hochleistungsmilchkühen zwischen dem 10. d a.p. und dem 95. d p.p. (LSM  $\pm$  SEM) in Abhängigkeit von der Fütterung (Stärkediät  $\square$ ; Fett-betonte Diät  $\blacktriangledown$ ).

## 5 Diskussion

---

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Wirkung einer längerfristigen Zulage eines pansenstabilen Futterfettes in der Phase der Hochträchtigkeit auf die Stoffwechsel- und Leistungsparameter der darauffolgenden Laktation von Hochleistungsmilchkühen zu untersuchen. Der zugrundeliegenden Hypothese nach sollten die Tiere, die im letzten Trimester der Trächtigkeit mit Fett gefüttert worden sind, in der frühen Laktation besser auf die Verstoffwechslung von Fett eingestellt sein. Damit verbunden sollte der Stoffwechsel dieser Tiere weniger stark belastet sein, indem der Grad der Leberverfettung reduziert ist, die EB nicht so stark negativ ausgeprägt ist und die Tiere in geringerem Maß zur Ketose neigen. In Kapitel 4.1 ist ein Teil der Ergebnisse bereits im Rahmen einer Veröffentlichung erörtert worden; im Folgenden werden alle im Versuch generierten Ergebnisse im Kontext diskutiert.

### 5.1 Zootechnische Parameter

Der Verlauf von KG und RFD während des Beobachtungszeitraums verlief erwartungsgemäß mit einer Zunahme des KG in der späten Trächtigkeit und einer Abnahme des KG während der ersten vier Wochen der Laktation, was auf die Geburt des Kalbes und die einsetzende Milchproduktion zurückzuführen ist. Die Milchproduktion erreichte bereits in der 4. (Gruppe FD) bzw. 5. (Gruppe CD) Laktationswoche das Maximum, während die TS-Aufnahme in beiden Gruppen erst nach der 5. Laktationswoche maximal war. Dies resultierte in einer NEB, die bekanntermaßen mit Körpermasseverlust einhergeht (Grummer, 1995). Im Allgemeinen kommt es ab der 8. Laktationswoche zu einer ausgeglichenen und in der Folge positiven EB (Stevenson und Britt, 1979; Boisclair et al., 1986; Staples et al., 1990; Gallo et al., 1996; Domecq et al., 1997; Van Knegsel et al., 2007; Van Dorland et al., 2009). Auch die Entwicklung der RFD im Verlauf der Laktation folgt dem charakteristischen Verlauf mit einer Verminderung der RFD (Reist et al., 2003). Nach Staufenbiel (1993) ist eine

Reduktion von bis zu 15 mm (entspricht nach Klawuhn und Staufenbiel (1997) ca. 75 kg Körperfett) innerhalb der ersten acht Wochen der Laktation als physiologisch einzuschätzen. Die Tiere sollten ab dem Trockenstellen bis zur Kalbung eine RFD von 19 – 27 mm aufweisen. Demnach ist die Reduktion der RFD in beiden Fütterungsgruppen um maximal 10 mm während der postpartalen Phase als moderat anzusehen und kann als Zeichen eines angepassten Managements in der Trockenstehphase gewertet werden. Mit einer RFD in der Vorkalbeperiode von 16 mm (Gruppe CD) und 20 mm (Gruppe FD) waren die Tiere leicht unter- bzw. optimal konditioniert, wobei sich die Gruppen nicht signifikant voneinander unterschieden. Die Körperkondition von Kühen in den letzten Wochen der Trächtigkeit ist negativ mit der TS-Aufnahme in der frühen Laktation korreliert (Ingvarsen und Andersen, 2000; Hayirli et al., 2002). Erwartungsgemäß wurde in der peripartalen Phase unabhängig von der Fütterung in der letzten Woche vor der Kalbung die geringste TS-Aufnahme beobachtet. Diese Reduktion ist charakteristisch und wurde bereits früher beschrieben (Bertics et al., 1992; Grummer, 1995; Doepel et al., 2002; Hayirli et al., 2003). Auch der im Verhältnis zur Milchproduktion verzögerte Anstieg der TS-Aufnahme ist in Übereinstimmung mit Daten aus der Literatur. Nach Angaben von Ingvarsen und Andersen (2000) ist das Maximum der TS-Aufnahme erst ab der 8. Laktationswoche zu erwarten und kann sich bis zur 22. Laktationswoche hinziehen. Diesbezüglich ergaben sich keine Unterschiede in der vorliegenden Studie, da beide Fütterungsgruppen die maximale TS-Aufnahme in der 8. – 9. Laktationswoche erreichten. Allerdings war in der Far-off-Phase die TS-Aufnahme in Gruppe FD geringer. Zu diesem Zeitpunkt erhielten die Tiere seit vier Wochen die mit pansenstabilem Fett angereicherte Ration. Die Reduktion der TS-Aufnahme durch Fütterung eines Futterfettes konnte bereits mehrfach gezeigt werden. So berichteten Moallem et al. (2007a) und Petit et al. (2007) ebenfalls von reduzierter TS-Aufnahme. Diese Befunde waren aber nicht konsistent (Douglas et al., 2004; Andersen et al., 2008). Hinsichtlich des Ausmaßes der Futteraufnahmedepression in der vorliegenden Studie spielt die Zusammensetzung des verwendeten Fettes eine Rolle, das zu etwa 50 % ungesättigte FS enthielt. In Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen wurde in einer Reihe von Arbeiten von verminderten TS-Aufnahmen berichtet, wenn ungesättigte FS verabreicht wurden (Benson und Reynolds, 2001; Drackley et al., 1992; Christensen et al., 1994, Harvatine und Allen, 2006). Drackley et al. (1992) vermuten, dass ungesättigte langkettige FS Auswirkungen auf die gastrointestinale Motilität haben und damit zur Verminderung der TS-Aufnahme führen.



Die Aufnahme von Fett ist ein Stimulus für die Sekretion von Cholecystokinin, welches ein Mediator für das Sättigungsgefühl ist. Nach Infusion von ungesättigten FS sinkt die TS-Aufnahme im Vergleich zur Kontrollgruppe, die kein Fett erhielt, und der mit gesättigten FS versorgten Gruppe (Bradford et al., 2008). Eine Studie von Grovum (1981) mit Schafen unterstützt diese Aussage, da nach Injektion von Cholecystokinin die TS-Aufnahme innerhalb der ersten 10 min während der Fütterung um 39 % reduziert war. Choi und Palmquist (1996) untersuchten die Wirkung von Futterfett auf Cholecystokinin und fanden eine dosisabhängige Reaktion auf die TS-Aufnahme wenige Stunden nach der Fütterung. Dieser Mechanismus könnte auch in der eigenen Studie der beobachteten Reduktion der TS-Aufnahme zugrunde liegen. Entsprechend der Ergebnisse von Bradford et al. (2008) sind im Hinblick auf die Reduktion der TS-Aufnahme wahrscheinlich auch die ca. 50 % ungesättigte FS in dem verwendeten Futterfett von Bedeutung. Im gesamten Beobachtungszeitraum lag die Menge der aufgenommenen TS in Gruppe FD immer unter der der Gruppe CD. Signifikante Unterschiede ergaben sich zwar ausschließlich in der Far-off-Phase, aber diese numerisch verminderte TS-Aufnahme hatte Auswirkungen auf die Energieaufnahme sowie die Energiebilanz. Da die Rationen isoenergetisch zusammengesetzt waren, war aufgrund der geringen Futteraufnahme auch die Energieaufnahme reduziert und in der Far-off-Phase signifikant vermindert. Die Energiebilanz verhielt sich ähnlich, wobei in den ersten vier Wochen der Laktation die NEB in Gruppe FD deutlich stärker ausgeprägt war, als in Gruppe CD.

## 5.2 Milchleistung und Milchzusammensetzung

In früheren Studien hatte die Fütterung von Fett einen steigernden Effekt auf die Milchmenge (Grum et al., 1996) oder die Milchleistung blieb unbeeinflusst (Douglas et al., 2004). In beiden Studien ist in der Trockenstehphase mit 50 Tagen ähnlich lang eine Supplementierung mit Futterfett durchgeführt worden. In beiden Studien kam auch während der anschließenden Laktation Futterfett zum Einsatz. Reduzierte Milchmengen infolge einer Fettzulage sind ebenfalls publiziert worden (Moallem et al., 2007a). In der Arbeit von Moallem et al. (2007a) ist die geringste Milchleistung zu verzeichnen, wenn

während der Trächtigkeit eine Ca-Seife aus LCFA gefüttert wurde und während der Laktation eine Kontrollration, die kein Fett enthielt. Diese Beobachtung deckt sich mit den vorliegenden Ergebnissen. Mögliche Ursachen für die reduzierte Milchmenge könnten mit der Anzahl der milchbildenden Zellen im Euter assoziiert sein. Die bestimmenden Faktoren für die Milchproduktion sind neben der Anzahl auch die synthetischen sowie sekretorischen Kapazitäten der milchbildenden Zellen (Knight und Wilde, 1993). Capuco et al. (1997) zeigten, dass innerhalb der Trockenstehphase die Proliferation von Zellen zur Kalbung hin ansteigend ist, während in der frühen Laktation die Apoptoserate die Proliferationsrate übersteigt und damit die Anzahl der Epithelzellen mit fortschreitender Laktation abnahm (Capuco et al., 2001). IGF-1 stimuliert die Proliferation und Differentiation von Zellen und wirkt der Apoptose entgegen (Baumrucker und Eröndu, 2000; Accorsi et al., 2002). Während der Trockenstehphase ist die Serumkonzentration von IGF-1 gesteigert, während innerhalb der ersten Laktationswoche die Konzentration um das dreifache abfällt (Vega et al., 1991). Vandehaar et al. (1999) ermittelten den Verlauf von IGF-1 im Plasma in Abhängigkeit von der aufgenommenen Energie. Die IGF-1-Konzentration war von der aufgenommenen Energiemenge abhängig, wobei Tiere, die die höchsten Energiemengen aufnahmen, die höchsten IGF-1-Werte pro Messzeitpunkt im Plasma erreichten. Da in der Trockenstehphase mit steigender EA die Konzentration an IGF-1 im Plasma ebenfalls ansteigt, kann für die Tiere der Gruppe FD vermutet werden, dass die geringere EA zu geringeren Plasmakonzentrationen an IGF-1 führt. Damit könnte die Proliferation von Zellen reduziert und in der Laktation eine geringe Anzahl von Epithelzellen vorhanden sein. Zusätzlich ist die IGF-1-Plasmakonzentration in der letzten Trächtigkeitswoche negativ korreliert mit der NEFA-Konzentration (Vandehaar et al., 1999), wodurch insbesondere in der Far-off-Periode eine geringere IGF-1-Plasmakonzentration zu vermuten ist.

Eine weitere Ursache für die geringere Milchleistung infolge der Fettfütterung könnte auf die Laktosekonzentration in der Milch bzw. die absolut gebildete Laktosemenge zurückzuführen sein. Während des gesamten Beobachtungszeitraums war die gebildete Menge an Laktose in Gruppe FD geringer, wobei innerhalb der ersten vier Wochen der Laktation der Unterschied signifikant war und in den verbleibenden zehn Wochen zeigte sich tendenziell ( $P = 0,1$ ) eine geringere Laktosemenge. Moallem et al. (2007b) berichteten, ebenfalls nach Fütterung einer Ca-Seife, von einem reduzierten Laktosegehalt in der Milch,

was in diesem als auch im vorliegenden Versuch mit einer reduzierten Plasma-Glucosekonzentration durch die Fettzulage und damit mit einer verminderten Laktosesynthese assoziiert sein könnte.

In der FD-Gruppe war während der gesamten Laktation der Milchfettgehalt höher. Die Ergebnisse der FS-Analyse in der Milch zeigen, dass in dieser Gruppe zu allen Messzeitpunkten die Gehalte an C14:0 niedriger und C16:1 höher waren. Die FS C4:0 bis C14:0 und etwa 50 % der C16 werden mittels de novo Synthese aus Acetat und BHB gebildet (Bauman und Griinari, 2003), während längerkettige FS (>C16) und der Rest der C16 aus dem Blut aufgenommen werden. Diese stammen aus dem Futter oder aus abgebautem Körperfett. Das größte Ausmaß erreicht die Mobilisierung von Körperfett in der frühen Laktation (Bell, 1995) und kann in diesem Zeitraum einen Anteil von 25 – 40 % an den Milchfettsäuren haben (Palmquist und Mattos, 1978; Bell, 1995; Chilliard et al., 1991). In der FD-Gruppe könnte daher der Beitrag an endogenen FS, der durch den Abbau von Körperfett geleistet wird, ausreichend sein, um die de novo FS-Synthese zu inhibieren. Sowohl die höheren Gehalte an C16:1 als auch die geringeren Gehalte an C14:0 in dieser Gruppe sprechen für diese These. Ferner zeigen die FD-Kühe eine größere Reduktion der RFD, was für einen umfangreicheren Abbau von Körperfett spricht als in der Gruppe CD.

### 5.3 Metabolite und Hormone im Blut, Leberfett und -glykogen

Ausgehend von der Hypothese, dass eine längerfristige Fettsupplementierung in der späten Laktation und Trockenstehphase eine exzessive Fettmobilisierung in der frühen Laktation dämpfen würde, hatten wir erwartet, dass der Konzentrationsanstieg der NEFA im Plasma der FD-Gruppe weniger stark ausfallen würde. In der postpartalen Phase zeigten sich jedoch keine Unterschiede. Die für Hochleistungsmilchkühe typischen Konzentrationsmaxima von NEFA im Plasma direkt nach der Kalbung als Ausdruck für die in dieser Phase starke Mobilisierung von Körperfett (Pullen et al., 1989; Goff und Horst, 1997; Kokkonen et al., 2005) unterschieden sich jedoch nicht zwischen den Fütterungsgruppen. Auch konnte in der vorliegenden Studie bereits in den letzten Tagen der Trächtigkeit in beiden Fütterungsgruppen ein Anstieg der NEFA-Konzentration im Plasma beobachtet werden, was

für eine energetische Unterversorgung und Mobilisierung von Körperfett bereits in der letzten Woche vor der Kalbung spricht (Grummer, 1993, 1995). Die während der Trockenstehphase auftretende erhöhte NEFA-Konzentration in der fettsupplementierten Gruppe wurde bereits früher als Konsequenz des Einsatzes von Futterfett beobachtet (Douglas et al., 2007; Andersen et al., 2008; Drackley, 1999). Der Befund wird dahingehend interpretiert, dass hier FS aus dem Futter durch Absorption triacylglyceridreicher Lipoproteine (Chylomikronen und VLDL) in die Zirkulation gelangt sind (Katoh et al., 2002; Grummer und Carroll, 1988). Vermutlich ist die erhöhte NEFA-Konzentration auf eine erhöhte Lipoproteinlipase-Aktivität zurückzuführen. Diese Sichtweise wird durch das Auftreten signifikant erhöhter Plasma-TAG-Werte während des gesamten Zeitraums vor der Geburt unterstützt. Allerdings kommt auch noch eine weitere, wenn auch weniger wahrscheinliche Ursache in Frage: Verschiedene Autoren berichteten von einer negativen Korrelation zwischen der Konzentration an Plasma-NEFA p.p. und der TS-Aufnahme a.p. (Ingvarsen und Andersen, 2000; Doepel et al., 2002) bzw. der EB a.p. (Pullen et al., 1989; Reist et al., 2002). In der Tat waren die TS-Aufnahme und die EB innerhalb der Far-off-Phase in der Gruppe FD geringer. Es ist daher nicht auszuschließen, dass die in der FD-Gruppe vor dem Kalben erhöhten NEFA-Werte z.T. auch mit der weniger positiven EB in Zusammenhang stehen könnten.

Nach Andersson (1988) ist bei der subklinischen Ketose ein starker Anstieg von Ketonkörpern in Abwesenheit von klinischen Symptomen zu verzeichnen. Ab einer BHB-Konzentration von 1,0 mmol/l kann nach Kelly et al. (1977) von einer erhöhten Konzentration gesprochen werden, während ab 1,2 mmol/l das Risiko einer Labmagenverlagerung steigt (LeBlanc et al., 2005). Duffield et al. (2009) schlussfolgerten, dass ab einem Schwellenwert von 1,2 mmol/l von einem erhöhten Krankheitsrisiko auszugehen ist. Gemessen an diesen Werten bewegten sich die Kühe der CD-Gruppe vor dem Abkalben bereits im Grenzbereich zur subklinischen Ketose, während alle untersuchten Kühe innerhalb der ersten zehn Tage p.p. den Grenzwert überschritten. Entgegen unserer Hypothese waren demnach die Kühe in der fettsupplementierten Gruppe ebenso Ketose-gefährdet, wie die Tiere der Kontrollgruppe. Demzufolge hatte die langfristige, vorgeburtliche Fütterung eines pansengeschützten Fetts keine präventive Wirkung auf die Ketosegefährdung in der frühen Laktation. In Gruppe FD war in der vorgeburtlichen Phase

die Plasmakonzentration von BHB im Vergleich zur Gruppe CD allerdings signifikant niedriger. Dass die Fütterung von Fett nicht zu einer Erhöhung von BHB führt, wurde bereits gezeigt und ist ein Resultat der geringeren Kohlenhydratzufuhr (Douglas et al., 2004, 2006). In der Gruppe FD wurde während der letzten zwölf Wochen der Trächtigkeit 50 – 70 % weniger Stärke gefüttert, wodurch die Zusammensetzung der kurzkettigen FS im Pansen vermutlich zu Ungunsten von Butyrat verschoben wurde (Elliott et al., 1997). Etwa 90 % des über die Pansenepithelzellen aufgenommenen Butyrats wird zu Ketonkörpern (vor allem BHB und Acetoacetat) umgewandelt (Weigand et al., 1975). Ebenso konnte nachgewiesen werden, dass eine Butyrat-Infusion in den Pansen von jungen Ochsenaugen zu einem Anstieg der Ketonkörperkonzentration im Blut führte (Krehbiel et al., 1992).

Wie bereits erwähnt, spiegeln die in der FD-Gruppe erhöhten Plasma-TAG-Konzentrationen in der späten Laktation und der Trockenstehphase unmittelbar die Aufnahme des Futterfetts und die Absorption langkettiger FS wider. In Reaktion auf das Absetzen des Futterfetts mit dem Tag nach der Geburt kam es zu einer Halbierung der TAG-Konzentration in dieser Gruppe. Überraschenderweise verblieb jedoch die Konzentration an TAG bei den FD-Kühen bis zum 10. d p.p. im Vergleich zur Gruppe CD auf einem höheren Niveau, obwohl kein zusätzliches Fett mehr verabreicht wurde, ein Befund der sich einer unmittelbaren Interpretation entzieht. Eine mögliche Erklärung ist, dass in der FD-Gruppe vorübergehend eine stärkere Synthese bzw. stärkerer Export von hepatischen VLDL vorgelegen hat, obwohl beim Rind die VLDL-Sekretion generell niedrig ist (Kleppe et al., 1988). In der frühen Laktation wurde eine inverse Beziehung zwischen Plasma-TAG- und Leber-TAG-Level beschrieben, was die geringe VLDL-Sekretionsrate der Kühe widerspiegelt (Van den Top et al., 2005; Katoh, 2002). Obwohl nicht signifikant, war doch der Leberlipidgehalt in der FD-Gruppe vor dem Kalben höher, in den ersten vier Laktationswochen aber niedriger. Es darf daher spekuliert werden, dass die transient höhere TAG-Konzentration im Plasma von FD-Kühen nach dem Absetzen des Futterfetts mit einer Veränderung des Lipoproteinstoffwechsels in Zusammenhang steht.

Als direkter Effekt der Fettfütterung ist auch die um ca. Faktor zwei erhöhte Plasma-Cholesterolkonzentration anzusehen. Da sowohl die Futtermittelration als auch das während des letzten Trimesters der Trächtigkeit supplementierte Futterfett frei von Cholesterol waren, ist daher eine höhere intestinale und hepatische Cholesterolsynthese in der FD-Gruppe eine

wahrscheinliche Ursache für den Gruppenunterschied (Coleman et al., 1960; Nestel et al., 1978; Grummer und Carroll, 1988). Frühere Befunde zeigten ebenfalls einen Anstieg der Plasma-Cholesterolkonzentration unter dem Einfluss einer Fettsupplementierung (Carroll et al., 1990; Douglas et al., 2007; Andersen et al., 2008). Bereits etwa 30 Tage vor dem Kalben war in beiden Gruppen eine Abnahme der Cholesterolwerte zu verzeichnen, die in der FD-Gruppe sehr viel deutlicher ausfiel. Während in der FD-Gruppe möglicherweise ein Rückkopplungseffekt in Bezug auf die HMG-CoA-Reduktase zur Begrenzung der Cholesterolsynthese eine Rolle gespielt haben könnte, scheint insgesamt mit fortschreitender Trächtigkeit auch ein größerer Bedarf an Cholesterol vorzuliegen, der die absinkenden Konzentrationen erklären könnte. So verdoppelt der Fötus sein Gewicht ab dem 230. Trächtigkeitstag (Van Saun, 1991), was mit einer steigenden Anzahl teilungs- und wachstumsfähiger Zellen verbunden ist (Reynolds et al., 1990). Auch der Ersatz von beschädigten, alten oder toten Epithelzellen der Milchdrüse (Capuco et al., 1997) trägt zum Sinken des Cholesterolspiegels in der späten Trächtigkeit bei. Erwartungsgemäß und in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (Bernabucci et al., 2004; Van den Top et al., 1996) sank die Cholesterolkonzentration in den ersten Tagen der Laktation auf einen Minimalwert ab und stieg im weiteren Laktationsverlauf wieder an. Diese Entwicklung konnten wir in beiden Gruppen beobachten, allerdings auf unterschiedlichen Niveaus. In Gruppe FD blieb die Konzentration insgesamt höher. Nach Fütterung von Fett kommt die Erhöhung der Cholesterolkonzentration im Plasma durch eine höhere HDL- und LDL-Konzentration zustande, da diese Lipoproteinpartikel besonders cholesterolreich sind (Storry et al., 1980; Grummer und Carroll, 1988). Sie entstehen durch Metabolisierung von VLDL, was wiederum ein Hinweis auf eine gesteigerte VLDL-Synthese in der FD-Gruppe sein könnte. Dies kann nicht abschließend geklärt werden; es ist aber gezeigt worden, dass es bei der Milchkuh in der peripartalen Phase zu einer Veränderung des Lipoprotein-Stoffwechsels kommt (Bernabucci et al., 2004).

Die Parameter Albumin und Bilirubin können einen Hinweis auf die Funktionalität der Leber geben (Bernabucci et al., 2004; Steen, 2001). Weder in der Trockenstehphase noch im Verlauf der Laktation reagierte einer dieser Metabolite auf die unterschiedliche Fütterung im letzten Trächtigkeitstertel. Der Verlauf der Parameter zeigte die typische Entwicklung für Hochleistungsmilchkühe (Reist et al., 2003; Bernabucci et al., 2004; Rohn et al., 2004). Der

reduzierte Albumingehalt im geburtsnahen Zeitraum könnte mit geschädigten Leberzellen (Tennant, 1997), der weitere Anstieg mit einer gesteigerten Proteinsynthese (Bell, 1995) verbunden sein. Plasma-Bilirubin ist bei jenen Milchkühen erhöht, bei denen die TS-Aufnahme reduziert und/oder die Leber geschädigt ist (Rohn et al., 2004; Steen, 2001). Daraus kann geschlussfolgert werden, dass der Anstieg von Bilirubin p.p. in der vorliegenden Studie durch eine reduzierte TS-Aufnahme induziert worden ist und die Leber gleichermaßen und unabhängig von der Fütterung belastet war. Der Leber-TAG-Gehalt gibt keine Anhaltspunkte für eine vermehrte Schädigung der Leberzellen, wodurch eine verminderte Albuminkonzentration oder gesteigerte Bilirubinkonzentration zu erwarten gewesen wäre.

Hinsichtlich Laktat ist ein Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen zu erwarten, wenn die Leberfunktion beeinflusst wird. Sowohl die leberbezogenen Parameter (Leberfett, -glykogen, Albumin, Bilirubin) als auch die Plasma-Laktatkonzentration selbst weisen jedoch keine Anhaltspunkte für eine fütterungsbedingte Beeinflussung der Leber auf. Laktat kann über den Cori-Zyklus (Löffler, 2007) aus dem Muskel in die Leber transportiert werden und steht hier der Gluconeogenese zur Verfügung. Bei eingeschränkter Leberfunktion wären erhöhte Laktatkonzentrationen zu erwarten, da Laktat nicht maximal über die Gluconeogenese genutzt werden kann. Dieser Stoffwechselweg gewinnt in der frühen Laktation aufgrund des hohen Glucosebedarfs an Bedeutung und nimmt mit fortschreitender Laktation ab (Reynolds et al., 2003). Das Erreichen eines Basalwertes sowohl in Gruppe FD als auch Gruppe CD, der innerhalb der Laktation nicht wieder anstieg, spiegelt den Beitrag des Laktats zur Gluconeogenese wider (Benson et al., 2002). In der Laktation und insbesondere während der ersten Wochen nach dem Kalben kommt dem Glucosestoffwechsel eine besondere Bedeutung zu. Da mehr als 70 % der im Euter verfügbaren Glucose zur Synthese von Laktose genutzt werden (Waghorn und Baldwin, 1984) stellt der Glucosespiegel einen begrenzenden Faktor für die Höhe der Milchproduktion dar (Giesecke, 1981). Kühe mit einem höheren Glucosegehalt im Blut weisen tendenziell einen höheren Laktosegehalt in der Milch auf (Patton et al., 2004). Auch in der vorliegenden Studie kommen wir zu einem ähnlichen Ergebnis. So zeigte die Gruppe FD während der Laktation neben einem reduzierten Glucosegehalt auch einen geringeren Laktosegehalt in der Milch. In der Tendenz spiegelt sich dies auch in niedrigen Insulinkonzentrationen im Plasma wieder. Bei separater Betrachtung der Transitphase fällt die reduzierte

Glucosekonzentration unter dem Einfluss der fettbetonten Ration auf. Untersuchungen in bovinen Hepatozyten ergaben, dass die Gluconeogenese in Gegenwart einer erhöhten Dosis an langkettigen FS (Palmitinsäure) beeinträchtigt wird (Mashek und Grummer, 2003). Es ist daher denkbar, dass es durch eine transiente Veränderung des Lipidstoffwechsels der Kühe in der FD-Gruppe bis in die Laktation hinein (NEFA, TAG und Cholesterol im Plasma) zu einer reduzierten Gluconeogeneserate, zumindest in den ersten Laktationswochen, gekommen ist. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit besteht darin, dass die Tiere der Gruppe FD geringere Mengen an Kohlenhydraten aufnahmen, was durch eine reduzierte TS-Aufnahme während der Laktation bedingt war. Damit stünde weniger Propionat zur Verfügung, welches den wichtigsten Präkursor für die Gluconeogenese darstellt (Drackley et al., 2001). Da in der FD-Gruppe der Milchfettgehalt erhöht war, ist es nicht auszuschließen, dass Glucose auch für die Fettsynthese verwendet wurde. Von den aus der de novo Synthese stammenden FS sind in dieser Gruppe die Gehalte an C14:0 geringer und C16:1 höher verglichen mit Gruppe CD, was diese These nicht uneingeschränkt unterstützt. Allerdings sagen diese Messwerte nichts darüber aus, in welchem Umfang Glucose für die FS-Synthese genutzt worden ist.

Die Insulinkonzentration fiel bereits in den letzten Tagen der Trächtigkeit. Der Abfall setzte sich in den ersten Tagen der Laktation weiter fort. Diese Beobachtung deckt sich mit Ergebnissen anderer Autoren (Ingvarlsen und Andersen, 2000; Doepel et al., 2002; Reynolds et al., 2003; Moallem et al., 2007b). Die niedrigen Insulinkonzentrationen verursachen die fehlende Hemmung der Lipolyse in der frühen Laktation, was durch die gleichzeitig auftretenden hohen NEFA-Konzentrationen zum Ausdruck kommt (Vernon, 2002). Die Plasma-Insulinkonzentration in der FD-Gruppe war, wenn auch nur in der Tendenz, niedriger, was bereits in früheren Studien als Reaktion auf eine Zulage von Fett berichtet wurde (Choi und Palmquist, 1996; Grum et al., 1996; Benson und Reynolds, 2001; Moallem et al., 2007b). Oft war der Rückgang der Insulinkonzentration von einer Depression der TS-Aufnahme begleitet, wodurch die Verfügbarkeit von Glucose und Propionat, welche stimulierend auf die Insulinausschüttung wirken, eingeschränkt war.

Unbeeinflusst vom Fettzusatz in der Ration vor dem Kalben waren sowohl die Konzentrationen an Glucagon als auch Leptin im Plasma. Glucagon, der Gegenspieler von Insulin, zeigte mit dem Einsetzen der Laktation einen Anstieg der Konzentration, was Daten anderer Autoren bestätigt (De Boer et al., 1985; Herbein et al., 1985). Glucagon stimuliert



die Mobilisierung von Glykogen und Fettreserven sowie die Gluconeogenese und fördert die vorrangige Nutzung von FS als Energiequelle. Zur Deckung des stark steigenden Glucosebedarfs bei einsetzender Laktation wird die ansteigende endogene Glucoseproduktion durch den Anstieg der Glucagonkonzentration vermittelt (Williams et al., 2006).

Leptin ist ein Hormon, welches überwiegend im weißen Fettgewebe gebildet wird und über den Leptinrezeptor vor allem im zentralen Nervensystem, aber auch in den peripheren Geweben wirkt (Houseknecht et al., 1998; Harris, 2000; Smith und Sheffield, 2002). Eine Reduktion der Leptinkonzentration beim Übergang von der Trächtigkeit zur Laktation (Duske et al., 2009) konnte auch von anderen Autoren beobachtet werden (Hachenberg et al., 2007; Kessel et al., 2008). Frühere Befunde bestätigen auch die eigenen Daten (Duske et al., 2009) im Hinblick darauf, dass eine Fettzulage keinen direkten Einfluss auf den Leptinspiegel hat (Chilliard et al., 2001; Becu-Villalobos et al., 2007). Die Leptinkonzentration steht im Zusammenhang mit dem Ausmaß der Körperreserven (Chilliard et al., 2005) und reagiert bei energetischer Unterversorgung mit einem Abfall (Ingvarsen und Boisclair, 2001; Holtenius et al., 2003; Reist et al., 2003). Beim Menschen konnte nach Gewichtsverlust ein Absinken der Leptinkonzentration beobachtet werden (Dubuc et al., 1998). Die eigenen Daten unterstützen diese Beobachtungen, da sich die Reduktion des Leptingehalts invers zum zeitgleichen Anstieg der NEFA-Konzentration verhält (Duske et al., 2009).

Entgegen der Ausgangshypothese führte die Fütterung eines pansenstabilen Fetts in der Trächtigkeit nicht zu einem geringeren Leberfettgehalt in der folgenden Laktation. Die Aufnahme der FS und TAG-Speicherung in der Leber korrelieren mit der Menge an freien FS im Blut (Bertics et al., 1992; Grum et al., 1996). Auch in der vorliegenden Studie stieg der Fettgehalt in der Leber wenn die Tiere in eine NEB kommen. Gegensätzlich dazu entwickelt sich das gespeicherte Glykogen in der Leber, wobei auch hier kein Einfluss durch die Fütterung zu beobachten war. Die in der Leber gespeicherten TAG können als VLDL aus der Leber transportiert werden. Dazu besteht aber unter anderem ein hoher Bedarf an Cholesterol, welches in dieser kritischen Phase vermindert vorkommt. Durch die nicht ausreichende Synthese von VLDL und einen eingeschränkten Ausschleusemechanismus der

VLDL (Pullen et al., 1990) verbleibt TAG in der Leber und führt zur Verfettung (Drackley, 1999).

## 5.4 mRNA Konzentration im Leber- und Fettgewebe

Entsprechend der Hypothese sollte eine durch die Fettfütterung ausgelöste verbesserte Verstoffwechslung von Fett in der Laktation als eine Reaktion auf Transkriptionsebene zu erkennen sein. Dies gilt vornehmlich für die mit dem Lipidstoffwechsel verbundenen Gene. Ebenso sollte eine geringere Stoffwechselbelastung insbesondere bei den mit der Leber im Zusammenhang stehenden Genen zu erkennen sein.

Die Kopienanzahl des Albumin-Transkripts im Lebergewebe war bis zu 50-mal höher, als im Fettgewebe. Neben Bilirubin und FS werden auch zweiwertige Kationen an Albumin gebunden, im Blut transportiert (Gassmann und Lutz, 2000). Der Syntheseort von Albumin ist in der Leber. Die Konzentration von Albumin im Blut sinkt zu Beginn der Laktation ab (Bernabucci et al., 2004), was zum einen die NEB widerspiegelt und zum anderen die Belastung der Leber in diesem Zeitraum verdeutlicht. Aber auch der Rückgang der TS-Aufnahme zum Zeitpunkt der Geburt kann durch eine verminderte Zufuhr von Aminosäuren ursächlich für diesen Rückgang sein, zumal in dieser Phase eine Konkurrenzsituation hinsichtlich der Aminosäuren besteht. Bezüglich der Leberfunktion zeigt das Absinken der Plasma-Albuminkonzentration im geburtsnahen Zeitraum auch eine verminderte Funktionalität der Hepatozyten an (Tennant, 1997). Andererseits ist gerade während der NEB Albumin für den FS-Transport sehr wichtig. Insbesondere in der Leber unterstützt der Verlauf der mRNA Konzentration von Albumin die physiologische Lage der frühen Laktation. Die Fütterung der Ca-Seife in der Trächtigkeit verursachte keine ausreichend intensive Beeinflussung der Stoffwechsellage, so dass sich die Leberfunktion in beiden Gruppen unterscheiden würde. Dies wird auch durch die zu transportierenden Metabolite NEFA und Bilirubin unterstützt, die keinen Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen während der Laktation zeigten.

Auch Fibrinogen ist ein im hepatischen Gewebe synthetisiertes Protein und unterlag keiner Regulation durch die unterschiedliche Fütterung, was als weiterer Hinweis für das Fehlen einer fütterungsabhängigen Beeinträchtigung der Leberfunktion zu werten ist. Fibrinogen ist bei der Wundheilung von Bedeutung, indem es in Fibrin umgewandelt wird, welches für die Blutgerinnung verantwortlich ist. Ausgehend von dieser Funktion ist der Verlauf der Kopienanzahl im Leber- und Fettgewebe nachvollziehbar. Der Bedarf an Fibrinogen steigt sprunghaft an, um die infolge der Geburt auftretenden Blutungen zu stillen. Das erklärt den einmaligen Anstieg der Kopienanzahl am 1. d p.p.. Es erklärt aber auch das Verbleiben auf einem Basalwert an allen anderen Untersuchungszeitpunkten. Die Synthese von Fibrinogen könnte bei schweren Erkrankungen der Leber auch gehemmt sein; allerdings erscheint dieser Parameter ungünstig für die Einschätzung der Leberfunktion zu sein, da der hohe Bedarf an Fibrinogen auf nur wenige Stunden nach der Geburt begrenzt ist. In dieser Zeit ist die Belastung der Leber noch nicht maximal, so dass es zu einer Einschränkung der Syntheserate von Fibrinogen führen könnte.

Das Enzym ACC $\alpha$  katalysiert den ratenlimitierenden Schritt in der FS-Synthese, wobei aus Acetyl-CoA durch Carboxylierung irreversibel Malonyl-CoA entsteht. Während Citrat und Insulin die Aktivität von ACC $\alpha$  stimulieren, hemmen Acyl-CoA und Glucagon die ACC $\alpha$ -Aktivität. Die reversible Phosphorylierung von ACC $\alpha$ , die die Aktivität reguliert, wird wiederum durch die AMP aktivierten Proteinkinase (AMPK) beeinflusst (Winder und Hardie, 1996). AMPK phosphoryliert ACC $\alpha$  und inhibiert damit die Produktion von Malonyl-CoA. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass die mRNA Konzentration von ACC $\alpha$  im Leber- sowie s.c. Fettgewebe im peripartalen Zeitraum nicht durch die Fütterung von pansenstabilem Fett beeinflusst wird. Die Stoffwechsellage ist am deutlichsten im s.c. Fett zu beobachten. Der Abfall der Kopienanzahl ist drastisch und konnte bereits am 1. d p.p. gemessen werden. Diese Daten decken sich mit Untersuchungen von Doepel et al. (2002) und Ponce-Castaneda et al. (1991), die während der frühen Laktation eine stark reduzierte Aktivität bzw. mRNA Konzentration von ACC $\alpha$  im Vergleich zur späten Trächtigkeit fanden. Doepel et al. (2002) vermuten, dass der Abfall mit Insulin im Zusammenhang steht. Die Konzentration von Insulin ist im peripartalen Zeitraum niedrig, wodurch ein wichtiger Stimulator für ACC $\alpha$  fehlt. Gerade im Übergang zur Laktation könnte die EB mit ACC $\alpha$  im Zusammenhang stehen, aber auch diese Einflussgröße erklärt nicht, warum bis zum 95. d p.p. ähnlich geringe

Kopienanzahlen ermittelt wurden wie am 1. d p.p.. Die Auswirkungen der Stoffwechsellage sind im Lebergewebe sehr gering und zeigen den Übergang von Trächtigkeit zur Laktation nicht deutlich. Die de novo FS-Synthese ist im Lebergewebe von untergeordneter Bedeutung und daher ist hinsichtlich der ACC $\alpha$  mRNA auch kein drastischer Abfall im Übergang von der Trächtigkeit zur Laktation zu erwarten gewesen. Das geringe ACC $\alpha$ -Transkriptniveau im hepatischen Gewebe deckt sich mit Untersuchungen von Ponce-Castaneda et al. (1991). Neben dem gesamten ACC $\alpha$ -Gen ist auch die mRNA Konzentration der beiden Promotoren ACC $\alpha$ -P1 und ACC $\alpha$ -P2 untersucht worden. ACC $\alpha$ -P1 zeigt einen nahezu identischen Verlauf wie Gesamt-ACC $\alpha$ . ACC $\alpha$ -P1 ist im Fettgewebe sehr aktiv und die Anzahl der Transkripte ist im Fettgewebe neben dem Eutergewebe im Rind am höchsten (Mao et al., 2001). Auch in anderen Spezies (z. B. Ratten) ist ACC $\alpha$ -P1 im Fettgewebe sehr aktiv. Die Funktionsweise des Gens unterscheidet sich aber evolutionär bedingt voneinander (Mao et al., 2001). Die hohe Aktivität des ACC $\alpha$ -P1 wird durch die hohen Kopienanzahlen im s.c. Fettgewebe deutlich, die unabhängig von der Fütterung in beiden Gruppen gleichermaßen gemessen wurden. Das nahezu komplette Abregulieren der FS-Synthese im s.c. Fettgewebe durch Absinken der Kopienanzahlen von ACC $\alpha$  sowie ACC $\alpha$ -P1 sofort nach Laktationsbeginn deckt sich mit Aussagen von Sumner et al. (2008) und Doepel et al. (2002), dass mit Einsetzen der Laktation die FS-Synthese abgeschaltet ist. Die hepatischen mRNA Konzentrationsdaten von ACC $\alpha$  zeigen ein deutlich geringeres Niveau als im Fettgewebe und sind, wie auch ACC $\alpha$ , ACC $\alpha$ -P1 und -P2 im s.c. Fett, unabhängig von der Fütterung. Dies deckt sich mit der Tatsache, dass bei Rindern die FS-Synthese hauptsächlich im Fettgewebe und nicht in der Leber stattfindet. Die mRNA Konzentration von ACC $\alpha$ -P2 sinkt zwar in der frühen Laktation auch ab, aber deutlich langsamer und nicht in so starkem Maß verglichen mit ACC $\alpha$ -P1, was die untergeordnete Rolle in der FS-Synthese unterstützt.

Parallel zur Messung von Plasma-Leptin wurde die mRNA Konzentration von Leptin sowie vom Leptinrezeptor im Fettgewebe analysiert. Hinsichtlich des Leptins decken sich die Verläufe der Plasmakonzentration und der mRNA Konzentration. Die von uns beobachtete Entwicklung der Leptin mRNA Konzentration stimmt mit Daten von Block et al. (2001) überein, die im Übergang von der Trächtigkeit zur Laktation eine Reduktion von 57 % der Leptin mRNA Konzentration feststellten, wobei die untersuchten Kühe entsprechend der Bedarfsnormen versorgt worden sind. Das anhaltend niedrige Niveau der Leptin mRNA

Konzentration in der Laktation bis hin zum 95. d p.p. unterstützt die These, dass das Ausmaß der EB nicht allein ausschlaggebend für die mRNA Konzentration von Leptin ist. Untersuchungen in Adipozyten von Ratten haben beispielsweise gezeigt, dass Insulin die Expression von Leptin steigert (Mueller et al., 1998). Auch der Glucose-Flux hat in Perioden, die von hohen Gehalten an Insulin und TAG im Plasma sowie von einer Insulinresistenz geprägt sind, einen steigernden Effekt auf die Leptin mRNA (Wang et al., 1998). Die Expression des Leptinrezeptors ist am höchsten im zentralen Nervensystem, wird aber auch in den peripheren Geweben exprimiert (Bernabucci et al., 2006). Chelikani et al. (2003) hat in männlichen Kälbern das Vorhandensein der langen Form des Leptinrezeptors nachgewiesen, welcher für die meisten physiologischen Effekte von Leptin verantwortlich ist (Tartaglia, 1997). Die mRNA Konzentration sowohl des Leptins als auch des Leptinrezeptors im Fettgewebe wurde nicht durch die Fütterung beeinflusst. Da Plasma-Leptin positiv mit der Körperfettmenge korreliert ist und sich im vorliegenden Versuch die RFD in keiner Phase der Untersuchungen unterschied, ist keine Änderung der Leptin mRNA Konzentration zu erwarten. Die negativere EB der Gruppe FD innerhalb der ersten vier Wochen der Laktation beeinflusst offenbar die RFD nicht und deshalb vermutlich weder Plasma Leptin noch die Leptin mRNA Konzentration. Die Produktion von Leptin ist im s.c. Fett höher, als im intraabdominalen Fett (Boguszewski et al., 2010) und auch die mRNA Konzentration von Leptin ist im s.c. Fett höher (Lemor et al., 2010). Diese Untersuchungsergebnisse zeigen die Bedeutung des s.c. Fetts in Bezug auf das Vorhandensein von Leptin.

Entkopplerproteine (Uncoupling Proteins, UCP) gehören zur Familie der mitochondrialen Transportproteine. In Säugern sind grundsätzlich fünf UCPs bekannt und sie entkoppeln den Transport von Protonen durch die innere Mitochondrienmembran vom Elektronentransport und der Synthese von ATP aus ADP, was dazu führt, dass Wärme anstatt Energie produziert wird. Neben einer Beteiligung der UCPs an der Thermogenese, was vor allem für UCP1 gilt, werden auch Funktionen vor allem von UCP2 und UCP3 bei der Regulation des FS-Metabolismus diskutiert. UCP2 und UCP3 sind in der Lage Anionen zu transportieren (Klingenberg und Echtay, 2001). Dies wird notwendig, wenn durch Ansammlung von nichtveresterten freien FS im Mitochondrium toxische Effekte entstehen und mittels Ausschleusen von FS-Anionen durch UCPs mitochondriale Schäden vermieden werden können (Echtay, 2007; Harper et al., 2002). UCP2 ist an der inneren

Mitochondrienmembran lokalisiert und übernimmt durch die Beeinflussung der oxidativen Phosphorylierung eine wichtige Rolle beim Fettstoffwechsel, der EB und der Regulation des KG (Dalgaard et al., 2003; Saleh et al., 2002). UCP2 scheint weiterhin an der Regulation der Insulinsynthese und des FS-Metabolismus beteiligt zu sein, zwei Stoffwechselfvorgängen, die in der frühen Laktation bei hochleistenden Milchkühen von großer Bedeutung sind. Es ist bekannt, dass das Verhältnis von ATP zu ADP die Sekretion von Insulin kontrolliert, wobei ein steigendes Verhältnis von ATP zu ADP zur Insulinproduktion führt (Jezek, 2002). Es besteht die Möglichkeit, dass durch Inaktivierung von UCP2 das Verhältnis von ATP zu ADP erhöht wird, was wiederum zu einer gesteigerten Glucose-induzierten Sekretion von Insulin führt (Bouillaud, 2009). Umgekehrt beobachteten Saleh et al. (2002), dass bei Überexpression von UCP2 in Pankreaszellen die Glucose-induzierte Sekretion von Insulin vermindert war. Das Gen für UCP2 wird in einer Reihe von Geweben exprimiert (Fettgewebe, Muskel, Pankreas, zentrales Nervensystem) (Echtay, 2007), wobei die Höhe der mRNA Konzentration sich nicht proportional zum Proteingehalt verhält. So ist beispielsweise in Herz, Skelettmuskel und braunem Fettgewebe zwar UCP2-mRNA aber kein UCP2-Protein nachweisbar (Pecqueur et al., 2001). Im Lebergewebe ist UCP2-mRNA in geringerem Umfang exprimiert, wohingegen höhere Gehalte im Fettgewebe gemessen wurden (Mattiasson und Sullivan, 2006; Nedergaard und Cannon, 2003). Die Daten der vorliegenden Studie weisen keine gravierenden Unterschiede hinsichtlich des Niveaus der mRNA Konzentration in den beiden untersuchten Geweben auf. Die Erhöhung der mRNA Konzentration von UCP2 in den ersten Tagen der Laktation ist in Übereinstimmung mit der geringen Insulinkonzentration in diesem Zeitraum, was die Ergebnisse von Saleh et al. (2002) zu bestätigen scheint. Stoffwechselsituationen, die sich auf die NEFA-Konzentration im Blut auswirken, haben Einfluss auf die mRNA Konzentration von UCP2 und UCP3 (Rousset et al., 2004). Dies gilt unter anderem für Hungersituationen und fettreiche Rationen. Diese führten zur Steigerung der Expression von UCP2 (Schrauwen et al., 2001). Die Ursache für die gesteigerte Aktivität von Entkopplerproteinen gerade während einer energetischen Mangelsituation ist noch nicht bekannt. Hierbei könnte der Transport von FS-Anionen von Bedeutung sein. Bei Kühen der Gruppe FD ist die signifikant negativere EB mit höheren Gehalten an UCP2-mRNA verbunden. Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese.

Adiponektin reguliert zusammen mit Leptin am Hypothalamus die Futteraufnahme. Bei Hunger wirkt Adiponektin am Hypothalamus, was zur Steigerung der Futteraufnahme führt. Entgegengesetzt wirkt nach Futteraufnahme Leptin, was mit einer Verminderung der Futteraufnahme einhergeht (Kadowaki et al., 2008). Adiponektin steigert die Expression des Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptors alpha (PPAR $\alpha$ ), was wiederum dazu führt, dass der Gehalt an Leber-TAG gemindert und die Insulinsensitivität erhöht wird (Kadowaki und Yamauchi, 2005). Adiponektinrezeptor mRNA ist in verschiedenen Geweben im Rind exprimiert, wobei für AR2 eine hohe mRNA Konzentration im Lebergewebe gezeigt wurde (Ohtani et al., 2011). Bei Mäusen war in energetischen Mangelsituationen die AR2 mRNA Konzentration im Lebergewebe und in der Skelettmuskulatur erhöht (Kadowaki und Yamauchi, 2005). Wiederanfütterung nach einer 48-stündigen Nahrungskarenz, resultierte in einem raschen Absinken der AR2 mRNA Konzentration auf das Niveau der ad libitum gefütterten Tiere. Die vorliegenden, in Milchkühen erhobenen Daten, bestätigen diese Untersuchungen insofern, als dass mit Entwicklung einer NEB die AR2-mRNA ebenfalls ansteigt und nur langsam im weiteren Verlauf der Laktation, mit Verbesserung der energetischen Versorgung der Kühe absinkt. Der AR2 steigert die FS-Oxidation und die mRNA Konzentration von UCP2 (Svensson et al., 2011). Letzterer Befund wird durch die vorliegenden Untersuchungen insbesondere im s.c. Fett bestätigt, wobei für den Zeitraum zwischen 10. d p.p. und 95. d p.p. eine starke Korrelation zwischen AR2 und UCP2 sowohl für Gruppe FD ( $r = 0,96$ ) als auch Gruppe CD ( $r = 0,82$ ) festgestellt werden konnte. Das UCP2-Level beeinflusst wiederum die Genexpression von Adiponektin positiv (Chevillotte et al., 2007).

## 6 Zusammenfassung

---

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Wirkung einer längerfristigen Zulage eines pansenstabilen Futterfettes in der Phase der Hochträchtigkeit auf die Stoffwechsel- und Leistungsparameter der darauffolgenden Laktation von Hochleistungsmilchkühen zu untersuchen. Der zugrundeliegenden Hypothese nach sollten die Tiere, die im letzten Trimester der Trächtigkeit mit Fett gefüttert worden sind, in der frühen Laktation besser auf die Verstoffwechslung von Fett eingestellt sein. Damit verbunden sollte der Stoffwechsel dieser Tiere weniger stark belastet sein, indem der Grad der Leberverfettung reduziert ist, die EB nicht so stark negativ ausgeprägt ist und die Tiere in geringerem Maß zur Ketose neigen.

Es wurden achtzehn Hochleistungsmilchkühe der Rasse Deutsch Holstein mit einer geschätzten Milchleistung von über 9.000 kg Milch in 305 Laktationstagen der ersten Laktation untersucht. Alle Kühe waren Halbgeschwister und wurden randomisiert zwei Fütterungsgruppen zugewiesen. Die experimentelle Fütterung begann 12 Wochen vor dem errechneten Kalbetermin und bestand entweder aus einer kohlenhydratreichen Kontrollration (Gruppe CD) oder einer mit einem pansengeschützten Fett versehenen Ration (Gruppe FD). Die Rohfettgehalte der Rationen lagen zwischen 22 und 28 g/kg TS in Gruppe CD und 51 und 62 g/kg TS in Gruppe FD. Die Rationen waren isoenergetisch und isonitrogen gestaltet. Mit Einsetzen der Laktation erhielten alle Tiere die gleiche Laktationsration ad libitum, welche keine Zusätze des pansengeschützten Fetts enthielt.

Den Kühen wurden an sieben Zeitpunkten innerhalb der letzten acht Wochen der Trächtigkeit und an elf Zeitpunkten innerhalb der ersten 95 Tage der 2. Laktation Blutproben entnommen. Weiterhin sind am 10. d a.p. und am 1., 10., 28. und 95. d p.p. Gewebebioptate aus der Leber und dem s.c. Fett für die Analyse der mRNA Expression sowie zur Ermittlung des Leberfett und -glykogengehalts gewonnen worden. Körpergewicht, Energiebilanz, RFD und TS-Aufnahme wurden in regelmäßigen Abständen während der gesamten Untersuchungsperiode bestimmt. Während der Laktation wurden neben der Milchmenge auch die Milchinhaltsstoffe ermittelt.



Während der Far-off-Periode war die TS-Aufnahme in Gruppe FD signifikant vermindert. Daraus ergab sich, dass diese Tiere in der Far-off-Periode tendenziell eine geringere Menge an Energie aufnahmen. Diese Beobachtung gilt auch für die ersten vier Wochen der 2. Laktation bei Tieren der Gruppe FD. Die Milchmenge war in den ersten vier Laktationswochen in der Gruppe FD ebenfalls geringer, wobei sich aber die ECM nicht zwischen den Gruppen unterschied. Der Milchfettgehalt in Gruppe FD war zwischen Woche 5 und 14 während der Laktation erhöht und die gebildete Laktosemenge in Laktationswoche 0 bis 4 vermindert. In der Vorkalbeperiode führte die Fütterung von Fett zu signifikant höheren Gehalten an TAG, NEFA und Cholesterol im Plasma, während BHB vermindert war. Diese Plasmaparameter waren in der Laktation nicht gruppenspezifisch beeinflusst. Der Glucosegehalt im Plasma war in der Transitphase für die Kühe der Gruppe FD vermindert. Die weiterhin ermittelten Plasmaparameter (Insulin, Glucagon, Glucagon/Insulin-Verhältnis, Harnstoff, Bilirubin, Laktat, Albumin, Leptin) unterschieden sich nicht aufgrund der Fütterung. Die Parameter, die im Leber- sowie s.c. Fettgewebe untersucht wurden (ACC $\alpha$ , ACC $\alpha$ -P1, ACC $\alpha$ -P2, Albumin, Leptin, Leptinrezeptor, Adiponektinrezeptor 2, Fibrinogen), erfuhren ebenfalls keine Regulierung durch die Fütterung. Einzige Ausnahme bildete die mRNA Expression von UCP2, welches im Fettgewebe der Gruppe FD signifikant erhöht war. Die Gehalte von Fett und Glykogen im Lebergewebe unterschieden sich ebenfalls nicht zwischen den Fütterungsgruppen.

Grundsätzlich kann zusammengefasst werden, dass die Fütterung des pansenstabilen Fetts im Vergleich zur Kontrollration keinen die Leber entlastenden Effekt zeigte, was durch die leberbezogenen Plasmaparameter wie auch den Leberfett- und Leberglykogengehalt deutlich wurde. Das Futterfett verursachte eine durchgehend reduzierte, zum Teil auch signifikant verminderte TS-Aufnahme, was Auswirkungen auf das Ausmaß der NEB hatte. Diese war in Gruppe FD während der Laktation stärker ausgeprägt. Auch die Milchmenge war in Gruppe FD reduziert, wobei aber die Energie-korrigierte Milchmenge nicht unterschiedlich war. Vermutlich steht die geringere Milchmenge in Gruppe FD zum einen mit dem verminderten Plasma-Glucosegehalt in Zusammenhang. Zum anderen könnten die Kühe der Gruppe FD durch die geringere TS-Aufnahme in geringerem Umfang sekretorische Zellen in der Vorkalbeperiode gebildet haben, deren Anzahl für die Höhe der Milchproduktion von entscheidender Bedeutung ist.

## 7 Summary

---

The objective of this study was to investigate the effects of long-term supplementation with rumen protected fat during the last trimester of pregnancy on metabolism and milk performance during the subsequent lactation. The hypothesis was that due to fat feeding cows should be better adapted to metabolize fat during early lactation period. Furthermore, liver fat was assumed to be lower in response to a better fat oxidation leading in turn to a less severe NEB. According to this hypothesis fat feeding should be associated with a lower risk of ketosis.

Eighteen high-yielding German Holstein dairy cows were examined. All cows were half-siblings and had an estimated 305 days milk yield of more than 9.000 kg milk during first lactation. The cows were randomly assigned to one of two feeding groups. Experimental feeding started at 12 weeks before expected parturition. Cows of group CD received a carbohydrate-rich ration whereas the ration for cows of group FD was supplemented with rumen-protected fat. The content of crude fat ranged between 22 and 28 g/kg DM in group CD and between 51 and 62 g/kg DM in group FD. Both rations were calculated to be isoenergetic and isonitrogen. During lactation all cows fed one lactation diet which was not supplemented with rumen-protected fat. Blood samples were taken at seven time points during the last eight weeks of gestation and at eleven time points within the first 95 days of lactation. Liver and s.c. fat biopsies were taken 10 d before and 1, 10, 28, and 95 days before and after parturition to determine liver fat and glycogen content, as well as liver and s.c. fat mRNA abundances. During the examination period BW, EB, BFT and DMI was regularly monitored. In addition to the determination of daily milk yield, milk composition was analyzed at weekly intervals.

In response to the supplementation of dietary fat DMI was reduced in tendency within the far-off-phase. Therefore EI of cows in the FD group was tendentially lower during the far-off-perid too. The same applies to the first four weeks of 2<sup>nd</sup> lactation in group FD. This was accompanied by lower milk yield throughout the same lactation period, although ECM did not differ between the groups. In group FD the milk fat content was increased

## Summary

between week five and fourteen whereas the amount of lactose was decreased from parturition until the week 4 of lactation. During pregnancy fat feeding led to significantly higher contents of TAG, NEFA, and cholesterol in plasma, additionally plasma BHB was decreased. These effects were not being found during lactation, but in transition period the concentration of plasma glucose was decreased in cows of the FD group. No differences were observed in other plasma variables, such as insulin, glucagon, glucagon to insulin ratio, urea, bilirubin, lactate, albumin, and leptin. Feeding of rumen-protected fat did not result in differences in comparison to the control diet in regard to the mRNA expression levels of ACC $\alpha$ , ACC $\alpha$ -P1, ACC $\alpha$ -P2, albumin, leptin, leptin receptor, adiponectin receptor 2, and fibrinogen, as well as liver fat and liver glycogen. The only exception was UCP2 mRNA abundance, which was significantly higher in s.c. fat in cows of group FD.

It is concluded from the results that feeding diets supplemented with rumen-protected fat pre-calving did not lead to an improved metabolic status in terms of reduced fatty liver in comparison to the control diet. This finding was supported by liver-related plasma parameters (albumin, bilirubin) as well as liver fat and liver glycogen. These parameters showed no diet-dependent differences. As a result of dietary fat supplementation, DMI was reduced consistently in cows of group FD. This reduction was partly significant and affected the severeness of NEB, i.e. NEB in cows of group FD was more negative during lactation. Although milk yield was reduced, due to the above described differences in milk composition cows of group FD secreted the same amount of energy with milk in comparison to group CD. Presumably, the reduced plasma glucose level was associated with lower milk yield in group FD. Another possible explanation for the decreased milk yield concerns the number of mammary gland secretory cells. Perhaps supplemented fat fed during the last 12 weeks of gestation, and the subsequently lower energy intake led to a reduced number of these cells, which are of crucial importance for milk yield.

## 8 Literaturverzeichnis

---

- Accorsi, P. A., B. Pacioni, C. Pezzi, M. Forni, D. J. Flint und E. Seren. 2002. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 85: 507-513
- Accorsi, P. A., N. Govoni, R. Gaiani, C. Pezzi, E. Seren und C. Tamanini. 2005. Leptin, GH, PRL, insulin and metabolic parameters throughout the dry period and lactation in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 40: 217-223
- Agrarbericht 2009 des Landes Mecklenburg Vorpommern (Berichtsjahr 2008). 2009. Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Verbraucherschutz Mecklenburg-Vorpommern, Schwerin, Deutschland. Seite 59
- Ahima, R. S., D. Prabakaran, C. Mantzoros, D. Qu, B. Lowell, E. Maratos-Flier und J. S. Flier. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 382: 250-252
- Ahima, R. S. und D. A. Antwi. 2008. Brain regulation of appetite and satiety. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 37: 811-823
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83: 1598-1624
- Anderson, J. B., N. C. Friggens, T. Larsen, M. Vestergaard und K. L. Ingvarsten. 2003. Effect of energy density in the diet and milking frequency on plasma metabolites and hormones in early lactation dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 51: 52-57
- Andersen, J. B., C. Ridder und T. Larsen. 2008. Priming the cow for mobilization in the periparturient period: Effects of supplementing the dry cow with saturated fat or linseed. *J. Dairy Sci.* 91:1029–1043
- Andersson, L. 1988. Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4: 233–251
- Andrew, S. M., F. H. Tyrrell, K. C. Reynolds und R. A. Erdman. 1991. Net energy for lactation of calcium salts of long-chain fatty acids for cows fed silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 74: 2588-2600
- Armstrong, D. G. 1965. Carbohydrate metabolism in ruminants and energy supply. *in* *Physiology of digestion in the ruminant.* R. W. Dougherty, R. S. Allen, W. Burroughs, N. L. Jacobson und A. D. McGilliard. ed. Butterworth, Inc., Washington, DC.
- Baird, G. D. 1982. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J. Dairy Sci.* 65: 1-10
- Bareille, N. und P. Faverdin. 1996. Lipid metabolism and intake behavior of dairy cows: effects of intravenous lipid and beta-adrenergic supplementation. *J. Dairy Sci.* 79: 1209–1220
- Bateman, H. G. und T. C. Jenkins. 1998. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* 81: 2451-2458

- Bauman, D. E. und W. B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63: 1514-1529
- Bauman, D. E. und J. M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23: 203-227
- Bauman, D. E. und J. M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome *Livestock Production Science* 70: 15–29
- Bauman, D. E. 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited *in: Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction.* ed. P. B. Cronje
- Baumgard, L. H., B. A. Corl, D. A. Dwyer, A. Saebø und D. E. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 278: 179-184
- Baumrucker, C. R. und N. E. Erondü. 2000. Insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine mammary gland and milk. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 5: 53-64
- Becú-Villalobos, D., I. García-Tornadú, G. Shroeder, E. E. Salado, G. Gagliostro, C. Delavaud, Y. Chilliard und I. M. Lacau-Mengido. 2007. Effect of fat supplementation on leptin, insulin-like growth factor I, growth hormone, and insulin in cattle. *Can. J. Vet. Res.* 71: 218-225
- Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73: 2804-2810
- Bell, A. W. 1980. Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. *Prog. Lipid Res.* 18: 117-164
- Bensadoun, A., O. L. Paladines und J. T. Reid. 1962. Effect of level of intake and physical form of the diet on plasma glucose concentration and volatile fatty acid absorption in ruminants. *J. Dairy Sci.* 45: 1203-1210
- Benson, J. A., C. K. Reynolds, P. C. Aikman, B. Lupoli und D. E. Beever. 2002. Effects of abomasal vegetable oil infusion on splanchnic nutrient metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 1804-1814
- Benson, J. A. und C. K. Reynolds. 2001. Effects of abomasal infusion of long-chain fatty acids on splanchnic metabolism of pancreatic and gut hormones in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 1488–1500
- Bernabucci, U., B. Ronchi, L. Basirico, D. Piazzi, F. Rueca, N. Lacetera und A. Nardone. 2004. Abundance of mRNA of apolipoprotein B100, apolipoprotein E, and microsomal triglyceride transfer protein in liver from periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2881–2888
- Bernabucci, U., L. Basirico, N. Lacetera, P. Morera, B. Ronchi, P. A. Accorsi, E. Seren und A. Nardone. 2006. Photoperiod affects gene expression of leptin and leptin receptors in adipose tissue from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 4678-4686
- Bernal-Santos, G., J. W. Perfield, II, D. M. Barbano, D. E. Bauman und T. R. Overton. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 86: 3218-3228

- Bertics, S. J., R. R. Grummer, C. Cardoniga-Valino und E. E. Stoddard. 1992. Effects of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75: 1914-1922
- Bines, J. A. und I. C. Hart. 1982. Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. *J. Dairy Sci.* 65: 1375-1389
- Block, S. S., W. R. Butler, R. A. Ehrhardt, A. W. Bell, M. E. Van Amburgh und Y. R. Boisclair. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171: 339-348
- Bobe, G., J. W. Young und D. C. Beitz. 2004. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3105-3124
- Boguszewski, C.L., G. Paz-Filho und L. A. Velloso. 2010. Neuroendocrine body weight regulation: integration between fat tissue, gastrointestinal tract, and the brain. *Endokrynol. Pol.* 61: 194-206
- Boisclair, Y., D. G. Grieve, J. B. Stone, O. B. Allen und G. K. MacLeod. 1986. Effect of prepartum energy, body condition, and sodium bicarbonate on production of cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 69: 2636-2647
- Bouillaud, F. 2009. UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. *Biochim. Biophys. Acta.* 1787: 377-383
- Bradford, B. J., K. J. Harvatine und M. S. Allen. 2008. Dietary unsaturated fatty acids increase plasma glucagon-like peptide-1 and cholecystokinin and may decrease premeal ghrelin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1443-1450
- Bremmer, D. R., L. D. Ruppert, J. H. Clark und J. K. Drackley. 1998. Effects of chain length and unsaturation of fatty acid mixtures infused into the abomasum of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 176-188
- Bremmer, D. R., S. J. Bertics, S. A. Besong und R. R. Grummer. 2000. Changes in hepatic microsomal triglyceride transfer protein and triglyceride in periparturient dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83: 2252-2260
- Brockman, R. P. 1982. Effect of adrenal denervation on the glucose, insulin, and glucagon responses to exercise in sheep. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60: 1459-1463
- Butler, W. R., R. W. Everett und C. E. Coppock. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53: 742-748
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 61: 449-457
- Cadorniga-Valino, C., R. R. Grummer, L. E. Armentano, S. S. Donkin und S. J. Bertics. 1997. Effects of fatty acids and hormones on fatty acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 80: 646-656
- Capuco, A. V., R. M. Akers und J. J. Smith. 1997. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology. *J. Dairy Sci.* 80: 477-487

- Capuco, A. V., D. L. Wood, R. Baldwin, K. Mcleod und M. J. Paape. 2001. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: Relation to milk production and effect of bST. *J. Dairy Sci.* 84: 2177–2187
- Carroll, D. J., M. J. Jerred, R. R. Grummer, D. K. Combs, R. A. Pierson und E. R Hauser. 1990. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on plasma progesterone, energy balance, and reproductive traits of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 2855-2863
- Chelikani, P. K., D. R. Glimm und J. J. Kennelly. 2003. Short communication: tissue distribution of leptin and leptin receptor mRNA in the bovine. *J. Dairy Sci.* 86: 2369–2372
- Chevillotte, E., M. Giralt, B. Miroux, D. Ricquier und F. Villarroya. 2007. Uncoupling protein-2 controls adiponectin gene expression in adipose tissue through the modulation of reactive oxygen species production. *Diabetes.* 56: 1042-1050
- Chien, E. K., M. Hara, M. Rouard, H. Yano, M. Phillippe, K. S. Polonsky und G. I. Bell. 1997. Increase in serum leptin and uterine leptin receptor messenger RNA levels during pregnancy in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237: 476-480
- Chilliard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76: 3897-3931
- Chilliard, Y., F. Bocquier und M. Doreau. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 131-152
- Chilliard Y, G. Gagliostro, J. Fléchte, J. Lefavre und I. Sebastain. 1991. Duodenal rapeseed infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acid and adipose tissue lipogenic activities. *J. Dairy Sci.* 74: 1844-1854
- Chilliard, Y., C. Delavaud und M. Bonnet. 2005. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Dom. Anim. Endocrinol.* 29: 3-22
- Chilliard, Y., M. Bonnet, C. Delavaud, Y. Faulconnier, C. Leroux, J. Djiane und F. Bocquier. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 271-295
- Choi, B. R. und D. L. Palmquist. 1996. High fat diets increase plasma cholecystokinin and pancreatic polypeptide, and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. *J. Nutr.* 126: 2913–2919
- Chouinard, P.Y., V. Girard und G. J. Brisson. 1998. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *J. Dairy Sci.* 81: 471-481
- Chouinard, P. Y., V. Girard und G. J. Brisson. 1997. Lactational response of cows to different concentrations of calcium salts of canola oil fatty acids with or without bicarbonates. *J. Dairy Sci.* 80: 1185-1193
- Christensen, R. A., M. R. Cameron, J. H. Clark, J. K. Drackley, J. M. Lynch und D. M. Barbano. 1994. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat. *J. Dairy Sci.* 77: 1618-1629

- Coffey, M. P., G. Simm, J. D. Oldham, W. G. Hill und S. Brotherstone. 2004. Genotype and diet effects on energy balance in the first three lactations of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 4318-4326
- Coleman, I. W. und J. M. R. Beveridge. 1960. The effect of dietary fat and the repeated withdrawal of small samples of blood on plasma cholesterol levels in the rat. *J. Nutr.* 71: 303-309
- Coppock, C. E., C. H. Noller und S. A. Wolfe. 1974. Effect of forage-concentrate ratio in complete feeds fed ad libitum on energy intake in relation to requirements by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 57: 1371-1380
- Coppock, C. E. und D. L. Wilks. 1991. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J. Anim Sci.* 69: 3826-3837
- Coppock, C. E. 1985. Energy nutrition and metabolism of the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 68: 3403-3410
- Crocker, M. K. und J. A. Yanovski. 2009. Pediatric obesity: etiology and treatment. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 38: 525-548
- Cummins, K. A. und J. L. Sartin. 1987. Response of insulin, glucagon, and growth hormone to intravenous glucose challenge in cows fed high fat diets. *J. Dairy Sci.* 70: 277-283
- Dalgaard, L. T., G. Andersen, L. H. Larsen, T. I. Sorensen, T. Andersen, T. Drivsholm, K. Borch-Johnsen, J. Fleckner, T. Hansen, N. Din und O. Pedersen. 2003. Mutational analysis of the UCP2 core promoter and relationships of variants with obesity. *Obes. Res.* 11: 1420-1427
- De Boer, G., A. Trenkle und J. W. Young. 1985. Glucagon, insulin, growth hormone, and some blood metabolites during energy restriction ketonemia of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 68: 326-337
- Dechow, C. D., G. W. Rogers, U. Sander-Nielsen, L. Klei, T. J. Lawlor, J. S. Clay, A. E. Freeman, G. Abdel-Azim, A. Kuck und S. Schnell. 2004. Correlations among body condition scores from various sources, dairy form, and cow health from the United States and Denmark. *J. Dairy Sci.* 81: 2700-2709
- De Jong, A. 1982. Patterns of plasma concentrations of insulin and glucagon after intravascular and intraruminal administration of volatile fatty acids in the goat. *J. Endocrinol.* 92: 357-370
- Delavaud, C., A. Ferlay, Y. Faulconnier, F. Bosquier, G. Kann und Y. Chilliard. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80: 1317-1328
- Doepel, L., H. Lapierre und J. J. Kennelly. 2002. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85: 2315-2334
- Domecq, J. J., A. L. Skidmore, J. W. Lloyd und J. B. Kaneene. 1997. Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80: 101-112
- Douglas, G. N., T. R. Overton, H. G. Bateman und J. K. Drackley. 2004. Peripartal metabolism and production of Holstein cows fed diets supplemented with fat during the dry period. *J. Dairy Sci.* 87: 4210-4220



- Douglas, G. N., T. R. Overton, H. G. Bateman II, H. M. Dann und J. K. Drackley. 2006. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 89: 2141–2157
- Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa und J. K. Drackley. 2007. Prepartum nutrition alters fatty acid composition in plasma, adipose tissue, and liver lipids of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 2941–2959
- Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 82: 2259–2273
- Drackley, J. K. 2002. Transition cow management and periparturient metabolic disorders. *in* Recent developments and perspectives in bovine medicine: keynote lectures. M. Kaske, H. Scholz, M. Höltershinken, Hrsg. Hannover. Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH. Seite 224-233
- Drackley, J. K., T. R. Overton und G. N. Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84: E100-E112
- Drackley, J. K., D. W. Lacount, J. P. Elliott, T. H. Klusmeyer, T. R. Overton, J. H. Clark und S. A. Blum. 1998. Supplemental fat and nicotinic acid for Holstein cows during an entire lactation. *J. Dairy Sci.* 81: 201-214
- Drackley, J. K., T. H. Klusmeyer, A. M. Trusk und J. H. Clark. 1992. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75: 1517–1526
- Dubuc, G. R., S. D. Phinney, J. S. Stern und P. J. Havel. 1998. Changes of serum leptin and endocrine and metabolic parameters after 7 days of energy restriction in men and women. *Metab. Clin. Exp.* 47: 429–434
- Duffield, T. F., K. D. Lissemore, B. W. McBride und K. E. Leslie. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92: 571-580
- Eastridge, M. L. 2006. Major advances in applied dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 89: 1311-1323
- Echtay, K. S. 2007. Mitochondrial uncoupling proteins-what is their physiological role? *Free Radic. Biol. Med.* 43: 1351-1371
- Ehrhardt, R. A., R. M. Slepatis, J. Siegal-Willott, M. E. Van Amburgh, A. W. Bell und Y. R. Boisclair. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *J. Endocrinol.* 166: 519-528
- Elliot, J. M., H. W. Symonds und B. Pike. 1985. Effect on feed intake of infusing sodium propionate or sodium acetate into a mesenteric vein of cattle. *J. Dairy Sci.* 68: 1165–1170
- Elliott, J. P., J. K. Drackley, C. G. Aldrich und N. R. Merchen. 1997. Effects of saturation and esterification of fat sources on site and extent of digestion in steers: ruminal fermentation and digestion of organic matter, fiber, and nitrogen. *J. Anim. Sci.* 75: 2803–2812
- Emery, R. S., J. S. Liesman und T. Herdt. 1992. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122: 832-837

- Enjalbert, F., M. C. Nicot, C. Bayourthe und R. Moncoulon. 2001. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 84: 583-589
- Enjalbert, F., C. M. Nicot, C. Bayourthe, M. Vernay und R. Moncoulon. 1997. Effects of dietary calcium soaps of unsaturated fatty acids on digestion, milk composition and physical properties of butter. *J. Dairy Res.* 64: 181-195
- Fahey, J., J. F. Mee, J. J. Murphy und D. O'Callaghan. 2002. Effects of calcium salts of fatty acids and calcium salt of methionine hydroxy analogue on plasma prostaglandin F<sub>2</sub>alpha metabolite and milk fatty acid profiles in late lactation Holstein-Friesian cows. *Theriogenology* 58: 1471-1482.
- Friggens, N. C., K. L. Ingvarlsen und G. C. Emmans. 2004. Prediction of body lipid change in pregnancy and lactation. *J. Dairy Sci.* 87: 988-1000
- Fürll, M. 2004. Stoffwechselkontrolle und Stoffwechselüberwachung bei Rindern. Teil 1: Chancen, Regeln und Risiken. *Nutztierpraxis aktuell*. 9: 8-17
- Gagliostro, G. und Y. Chilliard. 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 2. Voluntary intake, milk production, and composition. *J. Dairy Sci.* 74: 499-509
- Gallo, L., P. Carnier, M. Cassandro, R. Mantovani, L. Bailoni, B. Contiero und G. Bittante. 1996. Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. *J. Dairy Sci.* 79: 1009-1015
- Garcia-Bojalil, C. M., C. R. Staples, C. A. Risco, D. J. Savio und W. W. Thatcher. 1998. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: Productive responses. *J. Dairy Sci.* 81: 1374-1384
- Garnsworthy, P. C. 1996. The effects on milk yield and composition of incorporating lactose into the diet of dairy cows given protected fat. *Anim. Sci.* 62: 1-3
- Garnsworthy, P. C. 2007. Body condition score in dairy cows: Targets for production and fertility in Recent Advances in Animal Nutrition. Garnsworthy, P. C., J. Wiseman. (Hrsg.). Nottingham University Press. Nottingham. UK. Seite 61-86
- Garnsworthy, P. C. und J. H. Topps. 1982. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.* 36: 113-119
- Gassmann, M. und T. A. Lutz. 2000. Flüssige Bestandteile des Blutes. *in* von Engelhardt, W. und G. Breeves. *Physiologie der Haustiere*. 2. Auflage. Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG. Seite 192-198
- Geelen, M. J. H. und T. Wensing. 2006. Studies on hepatic lipidosis and coinciding health and fertility problems of high-producing dairy cows using the „Utrecht fatty liver model of dairy cows“. *Vet. Quart.* 28: 90-104
- Geishauser, T., K. Leslie, J. Tenhag und A. Bashiri. 2000. Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 296-299
- Giesecke, D. 1981. Zum Problem stoffwechselphysiologischer Leistungsgrenzen bei Hochleistungskühen. *Tierzüchter* 33: 520-522

- Goff, J. P. und R. L. Horst. 1997. Physiological changes at parturition and their relationships to metabolic disorder. *J. Dairy Sci.* 80: 1260-1268
- Goff, J. P. 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *J. Dairy Sci.* 89: 1292-1301
- Grovum, W. L. 1981. Factors affecting the voluntary feed intake of food by sheep. 3. The effects of intravenous infusions of gastrin, cholecystokinin and secretin on motility of the reticulo-rumen and intake. *Br. J. Nutr.* 45: 183-201
- Gröhn, Y., M. L. Bruss und L. A. Lindberg. 1983. Fatty infiltration of liver in spontaneously ketotic dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66: 2320-2328
- Grum, D. E., J. K. Drackley, R. S. Younker, D. W. La Count und J. J. Veenhuizen. 1996. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 1850-1864
- Grummer, R. R. und D. J. Carroll. 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 69: 3838-3852
- Grummer, R. R. und D. J. Carroll. 1988. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.* 66: 3160-3173
- Grummer, R. R., P. C. Hoffman, M. L. Luck und S. J. Bertics. 1995. Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 78: 172-180
- Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73: 2820-2833
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3882-3896
- Grummer, R. R., J. C. Winkler, S. J. Bertics und V. A. Studer. 1994. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77: 3618-3623
- Guinard-Flament, J., E. Delamaire, S. Lemosquet, M. Boutinaud und Y. David. 2006. Changes in mammary uptake and metabolic fate of glucose with once-daily milking and feed restriction in dairy cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 589-598
- Hachenberg, S., C. Weinkauf, S. Hiss und H. Sauerwein. 2007. Evaluation of classification modes potentially suitable to identify metabolic stress in healthy dairy cows during the peripartal period. *J. Anim. Sci.* 85: 1923-1932
- Hammon, H. M., G. Stürmer, F. Schneider, A. Tuchscherer, H. Blum, T. Engelhard, A. Genzel, R. Staufenbiel und W. Kanitz. 2009. Performance and metabolic and endocrine changes with emphasis on glucose metabolism in high-yielding dairy cows with high and low fat content in liver after calving. *J. Dairy Sci.* 92: 1554-1566
- Harper, M. E., R. Dent, S. Monemdjou, V. Bezaire, L. Van Wyck, G. Wells, G. N. Kavaslar, A. Gauthier, F. Tesson und R. McPherson. 2002. Decreased mitochondrial proton leak and reduced expression of uncoupling protein 3 in skeletal muscle of obese diet-resistant women. *Diabetes* 51: 2459-2466
- Harris, B. S. 2000. Leptin—much more than a satiety signal. *Annu. Rev. Nutr.* 20: 45-75

- Harvatine, K. J. und M. S. Allen. 2006. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 1104-1112
- Hayirli, A., R. R. Grummer, E. V. Nordheim und P. M. Crump. 2002. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 85: 3430-3443
- Hayirli, A., R. R. Grummer, E. V. Nordheim und P. M. Crump. 2003. Models for predicting dry matter intake of holsteins during the prefresh transition period. *J. Dairy Sci.* 86: 1771-1779
- Herbein, J. H., R. J. Aiello, L. Eckler, R. E. Pearson und R. M. Akers. 1985. Glucagon, growth hormone and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68: 320-325
- Herdt, T. H., T. Wensing, H. P. Haagsman, L. M. van Golde und H. J. Breuking. 1988. Hepatic triacylglycerol synthesis during a period of fatty liver development in sheep. *J. Anim. Sci.* 66: 1997-2013
- Holtenius, K., S. Agenas, C. Delavaud und Y. Chilliard. 2003. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J. Dairy Sci.* 86: 883-891
- Houseknecht, K. L., C. A. Baile, R. L. Matteri und M. E. Spurlock. 1998. The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 76: 1405-1420
- Huber, J. T., G. Higginbotham, R. A. Gomez-Alarcon, R. B. Taylor, K. H. Chen, S. C. Chan und Z. Wu. 1994. Heat stress interactions with protein, supplemental fat, and fungal cultures. *J. Dairy Sci.* 77: 2080-2090
- Illius, A. W. und N. S. Jessop. 1996. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74: 3052-3062
- Ingvartsen, K. L. und H. R. Andersen. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83: 1573-1597
- Ingvartsen, K. L. und Y. R. Boisclair. 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 215-250
- Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76: 3851-3863
- Jezek, P. 2002. Possible physiological roles of mitochondrial uncoupling proteins--UCPn. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34: 1190-1206
- Jilg, T., A. P. Aiple und M. Steingass. 1988. Fettstoffwechsel und Wirkungen von Futterfetten beim Wiederkäuer. *Übers. Tierern.* 16: 109-152
- Jordan, E. R. und R. H. Fourdraine. 1993. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. *J. Dairy Sci.* 76: 3247-3256
- Kadowaki, T. und T. Yamauchi. 2005. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr. Rev.* 26: 439-451
- Kadowaki, T., T. Yamauchi und N. Kubota. 2008. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett.* 582: 74-80

- Katoh, N. 2002. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 64: 293-307
- Kelly, J. M. 1977. Changes in serum B hydroxybutyrate concentrations in dairy cows kept under commercial farm conditions. *Vet. Rec.* 101: 499-502
- Kessel, S., M. Stroehl, H. H. D. Meyer, S. Hiss, H. Sauerwein, F. J. Schwarz und R. M. Bruckmaier. 2008. Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions. *J. Anim. Sci.* 86: 2903-2912
- Khorasani, G. R. und J. J. Kennelly. 1998. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 2459-2468
- Klawuhn, D. und R. Staufenberg. 1997. Aussagekraft der Rückenfettdicke zum Körperfettgehalt beim Rind. *Tierärztl. Praxis* 25: 133-138
- Kleppe, B. B., R. J. Aiello, R. R. Grummer und L. E. Armentano. 1988. Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro. *J. Dairy Sci.* 71: 1813-1822
- Klingenberg, M. und K. S. Echtay. 2001. Uncoupling proteins: the issues from a biochemist point of view. *Biochim. Biophys. Acta.* 1504: 128-143
- Knight, C. H. und C. J. Wilde. 1993. Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Livest. Prod. Sci.* 35: 3-19
- Koenen, E. P. C., R. F. Veerkamp, P. Dobbelaar und G. De Jong. 2001. Genetic analysis of body condition score of lactating Dutch Holstein and Red-and-White heifers. *J. Dairy Sci.* 84: 1265-1270
- Kokkonen, T., J. Taponen, T. Anttila, L. Syrjälä-Qvist, C. Delavaud, Y. Chilliard, M. Tuori und A. T. Tesfa. 2005. Effect of body fatness and glucogenic supplement on lipid and protein mobilization and plasma leptin in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88: 1127-1141
- Kolb, E. 1980. Biochemie und Pathobiochemie der Haustiere in: M. Günther, Hrsg.; Lehrbücher für Veterinäringenieure. Verlag S. Hirzel, Leipzig, Deutschland
- Komatsu, T., F. Itoh, S. Kushibiki und K. Hodate. 2005. Changes in gene expression of glucose transporters in lactating and nonlactating cows. *J. Dairy Sci.* 83: 557-564
- Kowalski, Z. M., P. M. Pisulewski und M. Spanghero. 1999. Effects of calcium soaps of rapeseed fatty acids and protected methionine on milk yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Res.* 66: 475-487
- Krehbiel, C. R., D. L. Harmon und J. E. Schnieder. 1992. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux. *J. Anim. Sci.* 70: 904-914
- Kronfeld, D. S. 1982. Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency, and spontaneous ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 65: 2204-2212
- Laeger, T., C. C. Metges und B. Kuhla. 2010. Role of beta-hydroxybutyric acid in the central regulation of energy balance. *Appetite* 54: 450-455
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield und K. E. Leslie. 2005. Predictors of abomasal displacement in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88: 159-170

- Lemor A, Mielenz M, Altmann M, von Borell E, Sauerwein H. 2010. mRNA abundance of adiponectin and its receptors, leptin and visfatin and of G-protein coupled receptor 41 in five different fat depots from sheep. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94: e96-101
- Linzell, J. L. und M. Peaker. 1971. Mechanism of milk secretion. *Physiol. Rev.* 51: 564-597
- Löffler, G. 2007. Koordinierung des Stoffwechsels in: Löffler, G., P. E. Petrides und P. C. Heinrich; *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, Deutschland
- Lucy, M. C., C. R. Staples, F. M. Michel und W. W. Thatcher. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 473-482
- Luick, J. R. 1960. Milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.* 43: 1344a-1350a
- Mackle, T. R., J. K. Kay, M. J. Auldist, A. K. McGibbon, B. A. Philpott, L. H. Baumgard und D. E. Bauman. 2003. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk fat concentration and yield from pasture-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 644-652
- Madison-Anderson, R. J., D. J. Schingoethe, M. J. Brouk, R. J. Baer und M. R. Lentsch. 1997. Response of lactating cows to supplemental unsaturated fat and niacin. *J. Dairy Sci.* 80: 1329-1338
- Martin, P. A. und M. H. Crump. 2003. The endocrine pancreas. In: MC DONALD, L. E. (Hrsg.) *Veterinary endocrinology and reproduction (6th edn.)* Lea and Febiger, Philadelphia, Seite 141-163
- Mao, J., S. Marcos, S. K. Davis, J. Burzlaff und H. M. Seyfert. 2001. Genomic distribution of three promoters of the bovine gene encoding acetyl-CoA carboxylase alpha and evidence that the nutritionally regulated promoter I contains a repressive element different from that in rat. *Biochem J.* 358: 127-135
- Mashek, D. G. und R. R. Grummer. 2003. Effects of long chain fatty acids on lipid and glucose metabolism in monolayer cultures of bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 86: 2390-2396
- Mattiasson, G. und P. G. Sullivan. 2006. The emerging functions of UCP2 in health, disease, and therapeutics. *Antioxid. Redox Signal.* 8: 1-38
- McCann, J. P., E. N. Bergman und D. H. Beermann. 1992. Dynamic and static phases of severe dietary obesity in sheep: food intakes, endocrinology and carcass and organ chemical composition. *J. Nutr.* 122: 496-505
- McDowell, G. H. 1983. Hormonal control of glucose homeostasis in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 42: 149-167
- McNamara, J. P. und J. K. Hillers. 1986a. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 1. Lipid synthesis in response to increased milk production and decreased energy intake. *J. Dairy Sci.* 69: 3032-3041
- McNamara, J. P. und J. K. Hillers. 1986b. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 2. Lipolysis response to milk production and energy intake. *J. Dairy Sci.* 69: 3042-3050
- McNamara, J. P. 1991. Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation. *J. Dairy Sci.* 74: 706-719

- Moallem, U., Y. Folman und D. Sklan. 2000. Effects of somatotropin and dietary calcium soaps of fatty acids in early lactation on milk production, dry matter intake, and energy balance of high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2085-2094
- Moallem, U., Y. Folman, A. Bor, A. Arav und D. Sklan. 1999. Effect of calcium soaps of fatty acids and administration of somatotropin on milk production, preovulatory follicular development, and plasma and follicular fluid lipid composition in high yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 2358-2368
- Moallem, U., M. Katz, H. Lehrer, L. Livshitz und S. Yakoby. 2007a. Role of peripartum dietary propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. *J. Dairy Sci.* 90: 1243–1254
- Moallem, U., M. Katz, A. Arieli und H. Lehrer. 2007b. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 3846–3856
- Möstl, E. 2000. Spezielle Endokrinologie *in* W. Engelhardt, G. Breves. (Hrsg.). Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH. Stuttgart. Seite 497-514
- Mueller, W.M., F. M. Gregoire, K. L. Stanhope, C. V. Mobbs, T. M. Mizuno, C. H. Warden, J. S. Stern und P. J. Havel. 1998. Evidence that glucose metabolism regulates leptin secretion from cultured rat adipocytes. *Endocrinology.* 139: 551-558
- Naumann, C. und R. Bassler. 1993. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Deutschland
- Nedergaard, J. und B. Cannon. 2003. The ‘novel’ ‘uncoupling’ proteins UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions. *Exp. Physiol.* 88: 65–84
- Nestel, P. J., A. Poyser, R. L. Hood, S. C. Mills, M. R. Willis, L. J. Cook und T. W. Scott. 1978. The effect of dietary fat supplements on cholesterol metabolism in ruminants. *J. Lipid Res.* 19: 899-909
- Nielsen, N. I., K. L. Ingvarsten und T. Larsen. 2003. Diurnal variation and the effect of feed restriction on plasma and milk metabolites in TMR-fed dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 50: 88-97
- Nocek, J. E., W. P. Kautz, J. A. Leedle und E. Block. 2003. Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. *J. Dairy Sci.* 86: 331-335
- Ohtani, Y., T. Yonezawa, S. H. Song, T. Takahashi, A. Ardiyanti, K. Sato, A. Hagino, S. G. Roh und K. Katoh. 2011. Gene expression and hormonal regulation of adiponectin and its receptors in bovine mammary gland and mammary epithelial cells. *Anim. Sci J.* 82: 99-106
- Oldick, B. S. und J. L. Firkins. 2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. *J. Anim. Sci.* 78: 2412-2420
- Otchere, E. O., A. D. McGilliard und J. W. Young. 1974. Quantitation of  $\alpha$ -linked glucose polymers passing to the small intestine in cattle. *J. Dairy Sci.* 57: 1189-1195
- Overton, T. R., J. K. Drackley, C. J. Ottemann-Abbamonte, A. B. Beaulieu, L. S. Emmert und J. H. Clark. 1999. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *J. Anim. Sci.* 77: 1940-1951

- Owens, F., D. Secrist, W. Hill und D. Gill. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 275-286
- Palmquist, D. L. und W. Mattos. 1978. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. *J. Dairy. Sci.* 61: 561-565
- Palmquist, D. L. und T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: a review. *J. Dairy Sci.* 63: 1-14
- Patton, R. S., C. E. Sorenson und A. R. Hippen. 2004. Effects of dietary glucogenic precursors and fat on feed intake and carbohydrate status of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2122-2129
- Pedernera, M., S. C. García, A. Horagadoga, I. Barchia und W. J. Fulkerson. 2008. Energy balance and reproduction on dairy cows fed to achieve low or high milk production on a pasture-based system. *J. Dairy Sci.* 91: 3896-3907
- Pedron, O., F. Cheli, E. M. Senator, D. Baroli und R. Rizzi. 1993. Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters and milk fatty acid composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 2528-2535
- Pecqueur, C., M. C. Alves-Guerra, C. Gelly, C. Levi-Meyrueis, E. Couplan, S. Collins, D. Ricquier, F. Bouillaud und B. Miroux. 2001. Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. *J. Biol. Chem.* 276: 8705-8712
- Perfield, J. W., G. Bernal-Santos, T. R. Overton und D. E. Bauman. 2002. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. *J. Dairy Sci.* 85: 2609-2617
- Petit, H. V., M. F. Palin und L. Doepel. 2007. Hepatic lipid metabolism in transition dairy cows fed flaxseed. *J. Dairy Sci.* 90: 4780-4792
- Ponce-Castaneda, M. V., F. Lopez-Casillas und K.-H. Kim. 1991. Acetyl-coenzyme A carboxylase messenger ribonucleic acid metabolism in liver, adipose tissue, and mammary glands during pregnancy and lactation. *J. Dairy Sci.* 74: 4013-4021
- Pryce, J. E., M. P. Coffey und G. Simm. 2001. The relationship between body condition score and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 84: 1508-1515
- Pryce, J. E. und B. L. Harris. 2006. Genetics of body condition score in New Zealand dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 4424-4432
- Pullen, D. L., D. L. Palmquist und R. S. Emery. 1989. Effect on days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *J. Dairy Sci.* 72: 49-58
- Pullen, D.L., J. S. Liesman und R. S. Emery. 1990. A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triglycerol from non esterified fatty acids in media. *J. Anim. Sci.* 68: 1398-1399
- Puppione, D. L. 1978. Implications of unique features of blood lipid transport in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 61: 651-659
- Reist, M., D. Erdin, D. Von Euw, K. Tschuemperlin, H. Leuenberger und Y. Chilliard. 2002. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 3314-3327



- Reist, M., D. Erdin, D. Von Euw, K. M. Tschuemperlin, H. Leuenberger, C. Delavaud, Y. Chilliard, H. M. Hammon, N. Nunzi und J. W. Blum. 2003. Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: Metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *J. Dairy Sci.* 86: 1690-1706
- Reynolds, C. K., P. C. Aikmann, B. Lupoli, D. J. Humphries und D. E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86: 1201-1217
- Reynolds, L. P., D. S. Millaway, J. D. Kirsch, J. E. Infeld und D. A. Redmer. 1990. Growth and in-vitro metabolism of placental tissues of cows from day 100 to day 250 of gestation. *J. Reprod. Fertil.* 89: 213-222
- Richards, S. 2004. Leberfunktion der Hochleistungskuh. *Nutztierpraxis aktuell. Agrar- und Veterinärakademie (AVA).* 10. Ausgabe  
[http://www.ava1.de/pdf/artikel/rinder/2004\\_04\\_richards.pdf](http://www.ava1.de/pdf/artikel/rinder/2004_04_richards.pdf)
- Rigout, S., S. Lemosqet, J. E. Van Eys, J. W. Blum und H. Rulquin. 2002. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 595-606
- Roche, J. R., D. P. Berry und E. S. Kolver. 2006. Holstein-Friesian strain and feed effects on milk production, body weight, and body condition score profiles in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 3532-3543
- Roche, J. R., N. C. Friggens, J. K. Kay, M. W. Fisher, K. J. Stafford und D. P. Berry. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 92: 5769-5801
- Rodriguez, L. A., C. C. Stallings, J. H. Herbein und M. L. McGilliard. 1997. Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal, blood, and milk components of Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80: 353-363
- Rohn, M., B. A. Tenhagen und W. Hofmann. 2004. Survival of dairy cows after surgery to correct abomasal displacement: 1. Clinical and laboratory parameters and overall survival. *J. Vet. Med. A* 51: 294-299
- Romo, G. A., R. A. Erdman, B. B. Teter, J. Sampugnath und D. P. Casper. 2000. Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with cis or trans fatty acids. *J. Dairy Sci.* 83: 2609-2619
- Rousset, S., M. C. Alves-Guerra, J. Mozo, B. Miroux, A. M. Cassard-Doulier, F. Bouillaud und D. Ricquier. 2004. The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes.* 53: 130-135
- Rukkwamsuk, T., T. Wensing und M. J. H. Geelen. 1998. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 81: 2904-2911
- Rukkwamsuk, T., T. A. M. Kruip und T. Wensing. 1999. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the parturient period. *Vet. Q.* 21: 71-77
- Rukkwamsuk, T., M. J. Geelen, T. A. Kruip und T. Wensing. 2000. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *J. Dairy Sci.* 83: 52-59

- Ruppert, L. D., J. K. Drackley, D. R. Bremmer und J. H. Clark. 2003. Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 593-609
- Russel, A. J. F und I. A. Wright. 1983. The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows. *Anim. Prod.* 37: 335-343
- Saleh, M. C., M. B. Wheeler und C. B. Chan. 2002. Uncoupling protein-2: evidence for its function as a metabolic regulator. *Diabetologia* 45: 174–187
- Sallmann, H. P. und H. Fuhrmann. 2000. Physiologische Aspekte der Leberfunktion. *in* Physiologie der Haustiere. W. Von Engelhardt und G. Breves (Hrsg.) Enke im Hippokrates Verlag. Stuttgart. Seite 422-434
- Sano, H., S. Hayakawa, H. Takahashi und Y. Terashima. 1995. Plasma insulin and glucagon responses to propionate infusion into femoral and mesenteric veins in sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 191-197
- SAS Institute. 1999. SAS User's Guide: Statistics. Version 8.2 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Savage, D. B. 2009. Mouse models of inherited lipodystrophy. *Dis. Model. Mech.* 2: 554-562
- Schingoethe, J. D. und D. P. Casper. 1991. Total lactational response to added fat during early lactation. *J. Dairy Sci.* 74: 2617-2622
- Schlerka, G. und J. Filar. 1981. Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. *Wiener Tierärztl. Monatsschr.* 68: 436-441
- Schrauwen, P., H. Hoppeler, R. Billeter, A. H. Bakker und D. R. Pendergast, 2001. Fiber type dependent upregulation of human skeletal muscle UCP2 and UCP3 mRNA expression by high-fat diet. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25: 449–456
- Schröder, U. J. und R. Staufenbiel. 2006. Invited Review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with the special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *J. Dairy Sci.* 89: 1-14
- Selberg, K. T., A. C. Lowe, C. R. Staples, N. D. Luchini und L. Badinga. 2004. Production and metabolic responses of periparturient Holstein cows to dietary conjugated linoleic acid and transoctadecenoic acids. *J. Dairy Sci.* 87: 158-168
- She, P., G. L. Lindberg, A. R. Hippen, D. C. Beitz und J. W. Young. 1999. Regulation of messenger ribonucleic acid expression for gluconeogenic enzymes during glucagon infusions into lactating cows. *J. Dairy Sci.* 82: 1153-1163
- Sklan, D., M. Kaim, U. Moallem und Y. Folman. 1994. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1652-1660
- Smith, T. R. und J. P. McNamara. 1990. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 6. Cellularity and hormone-sensitive lipase activity as affected by genetic merit and energy intake. *J. Dairy Sci.* 73: 772-783
- Smith, J. L. und L. G. Sheffield. 2002. Production and regulation of leptin in bovine mammary epithelial cells. *Domest. Anim. Endocrinol.* 22: 145–154

- Spiegelman, B. M. und J. S. Flier. 2001. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104: 531-543
- Stangassinger, M. 2000. Ausrichtung der Stoffwechselkontrolle in W. Engelhardt, G. Breves. (Hrsg.). *Physiologie der Haustiere*. Enke im Hippokrates Verlag GmbH. Stuttgart. Seite 460-466
- Staples, C. R., W. W. Thatcher und J. H. Clark. 1990. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73: 938-947
- Staples, C. R., J. M. Burke und W. W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 856-871
- Staufenbiel, R. 1993. Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Messung der Rückenfettdicke und der Untersuchung von Fettgewebe. *Vet.-Med. Habil.-Schr., Fachber. Veterinärmed.* Freie Universität Berlin, Berlin.
- Staufenbiel, R. und U. Schröder. 2004. Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. Teil 2 Physiologische Grundlagen. *Veterinärspiegel* 3: 227-230
- Steen, A. 2001. Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation: clinical examinations, blood and rumen fluid analyses. *Acta Vet. Scand.* 42: 219-228
- Stevenson, J. S. und J. H. Britt. 1979. Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 48: 570-577
- Storry, J. E., P. E. Brumby, B. Tuckley, V. A. Welch, D. Stead und R. J. Fulford. 1980. Effect of feeding protected lipid to dairy cows in early lactation on the composition of blood lipoproteins and secretion of fatty acids in milk. *J. Agric. Sci.* 94: 503-516
- Strang, B. D., S. J. Bertics, R. R. Grummer und L. E. Armentano. 1998. Effect of long chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81: 728-739
- Stryer, L. 1990. *Biochemie*. L. Stryer. Spektrum-der-Wissenschaft-Verlagsgesellschaft.
- Sumner, J. M. und J. P. McNamara. 2007. Expression of lipolytic genes in the adipose tissue of pregnant and lactating Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90: 5237-5246
- Sumner, J., C. Shachtschneider, J. Vierck und J. McNamara. 2008. Changes in the transcriptome of adipose tissue of the dairy heifer during late pregnancy and lactation as measured by gene array analysis: Changes in specific metabolic control genes. *J. Dairy Sci.* 91(E. Suppl. 1):313. (Abstr.)
- Suriyasathaporn, W., C. Heuer, E. N. Noordhuizen-Stassen und Y. H. Schukken. 2000. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: A review. *Vet. Res.* 31: 397-412
- Svensson, E., L. Olsen, C. Mörck, C. Brackmann, A. Enejder, N. J. Faergeman und M. Pilon. 2011. The adiponectin receptor homologs in *C. elegans* promote energy utilization and homeostasis. *PLoS One.* 6: e21343
- Tartaglia, L. A. 1997. The leptin receptor. *J. Biol. Chem.* 272: 6093-6096

- Tennant, B. C. 1997. Hepatic function. *in* Kaneko, J. J., J. W. Harvey und M. L. Bruss. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, San Diego Seite 327-366
- Van den Top, A. M., M. J. Geelen, T. Wensing, G. H. Wentink, A. T. Van 't Klooster und A. C. Beynen. 1996. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. *J Nutr.* 126: 76-85
- Van den Top, A. M., A. Van Tol, H. Jansen, M. J. Geelen und A. C. Beynen. 2005. Fatty liver in dairy cows post partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. *J. Dairy Res.* 72: 129-137
- Vandehaar, M. J., G. Yousif, B. K. Sharma, T. H. Herdt, R. S. Emery, M. S. Allen und J. S. Liesman. 1999. Effect of energy and protein density of prepartum diets on fat and protein metabolism of dairy cattle in the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 82: 1282-1295
- Van Dorland, H. A., S. Richter, I. Morel, M. G. Doherr, N. Castro und R. M. Bruckmaier. 2009. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 1924-1940
- Van Kneysel, A. T. M., H. Van den Brand, J. Dijkstra, W. M. Van Straalen, R. Jorritsma, S. Tamminga und B. Kemp. 2007. Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation *J. Dairy Sci.* 90: 3397-3409
- Van Saun, R. J. 1991. Dry cow nutrition. The key to improving fresh cow performance. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 7: 599-620
- Vazquez-Anon, M., S. Bertics, M. Luck und R. R. Grummer. 1994. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1521-1528
- Veerkamp, R. F., J. K. Oldenbroek, H. J. Van der Gaast und J. H. Van der Werf. 2000. Genetic correlation between days until start of luteal activity and milk yield, energy balance, and live weights. *J. Dairy Sci.* 83: 577-583
- Vega, J. R., C. A. Gibson, T. C. Skaar, D. L. Hadsell und C. R. Baumrucker. 1991. Insulin-like growth factor (IGF)-I and -II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 69: 2538-2547
- Vernon, R. G. 1981. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. *in* Lipid metabolism in ruminant animals. W. W. Christie (Hrsg.). Pergamon Press. Oxford. UK. Seite 279-362
- Vernon, R. G. 2002. Nutrient partitioning, lipid metabolism and relevant imbalances. In: Kaske M, Scholz H, Höltershinken M, Hrsg. Recent developments and perspectives in bovine medicine keynote lectures. Hrsg. Hannover. Hildesheimer Druck- und Verlags- GmbH. Seite 210-223
- Voelker Linton, J. A. und M. S. Allen. 2007. Nutrient demand affects ruminal digestion responses to a change in dietary forage concentration. *J. Dairy Sci.* 90: 4770-4779
- Voigt, J., S. Kuhla, K. Gaafar, M. Derno und H. Hagemeister. 2006. Digestibility of rumen protected fat in cattle. *Slovak J. Anim. Sci.* 39: 16–19

- Waghorn, G. C. und R. L. Baldwin. 1984. Model of metabolite flux within mammary gland of the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 64: 531-544
- Wang, J., R. Liu, M. Hawkins, N. Barzilai und L. Rossetti. 1998. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature.* 393: 684-688
- Weigand, E., J. W. Young und A. D. McGilliard. 1975. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. *J. Dairy Sci.* 58: 1294-1300
- Westwood, C. T., I. J. Lean, J. K. Garvin und P. C. Wynn. 2000. Effects of genetic merit and varying dietary protein degradability on lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2926-2940
- Wieghart, M., R. Slepatis, J. M. Elliot und D. F. Smith. 1986. Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *J. Nutr.* 116: 839-850
- Williams, E. L., S. M. Rodriguez, D. C. Beitz und S. S. Donkin. 2006. Effect of short-term glucagon administration on gluconeogenic enzymes in the liver of midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 693-703
- Winder, W. W. und D. G. Hardie. 1996. Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMPactivated protein kinase in muscle during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 270: E299-E304
- Young, J. W., D. R. Trott, P. J. Berger, S. P. Schmidt und J. A. Smith. 1974. Gluconeogenesis in ruminants: glucose kinetic parameters in calves under standardized conditions. *J. Nutr.* 104: 1049-1055
- Young, J. W. 1977. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. *J. Dairy Sci.* 60: 1-15
- Zammit, V. A. 1996. Role of insulin in hepatic fatty acid partitioning: emerging concepts. *Biochem. J.* 314: 1-14
- Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold und J. M. Friedmann. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432

# Danksagung

---

Frau PD Dr. habil. C. C. Metges möchte ich danken für die Überlassung des interessanten Themas und für die immer gewährte hilfreiche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn PD Dr. habil. H. Hammon für seine Hilfe gerade in praktischen und statistischen Fragestellungen.

Herrn Prof. Dr. H.-M. Seyfert und seinem Laborteam aus dem Forschungsbereich Molekularbiologie des FBN Dummerstorf möchte ich für die Analyse der Gewebeproben recht herzlich danken und insbesondere Frau A. Deike für ihre Hilfe und Geduld.

Die umfassende praktische Umsetzung der Studie wäre ohne die Mithilfe der Mitarbeiter des Rinderstalles und des Forschungsbereiches Ernährungsphysiologie des FBN Dummerstorf nicht möglich gewesen. Stellvertretend möchte ich mich bei Frau C. Reiko für die Unterstützung im Labor bedanken und bei Frau A.-K. Lohrenz, als meine Mitstreiterin, für eine tolle Zusammenarbeit.

Meinen Eltern, S. Banzet, N. Dobratz und Familie Meyer gilt abschließend mein Dank für uneingeschränkte Unterstützung, Geduld und sehr viel Verständnis.

# Lebenslauf

---

## Persönliche Daten

Name: Kathrin Duske  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Anschrift: Schwaaner Landstrasse 3, 18057 Rostock  
Geburtsdatum: 29. Mai 1978  
Geburtsort: Bergen / Rügen; Mecklenburg-Vorpommern

## Beruflicher Werdegang

ab 2008 wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Klinik für Innere Medizin, Abteilung Zellbiologie, Universität Rostock  
2005 – 2008 Doktorandin am Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf  
2004 – 2005 wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Klinik für Innere Medizin, Abteilung Klinische Forschung

## Studium

ab 2008 Promotionsstudium an der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät der Universität Kiel; Anfertigung der Dissertation mit dem Titel „Fütterung von pansenstabilem Fett im letzten Trächtigkeitstrimester und dessen Auswirkung auf die Stoffwechsellage der Hochleistungsmilchkuh in der Früh lactation  
2000 – 2004 Hauptstudium im Studiengang Agrarökologie an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock  
Abschluss: Dipl.-Ing. agr.  
1999 – 2000 zwei Urlaubssemester (Praktika absolviert)

1997 – 1999 Grundstudium im Studiengang Agrarökologie an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock

Abschluss: Vordiplom

### **Praktika**

01-09/2000 Kastanienhof KG Schlieven

Abschluss: Praktikantenprüfung – Landwirtschaft

08-12/1999 Gestüt Ganschow GbR

08-09/1998 Agrarprodukt Poseritz GmbH

### **Schulbildung**

1994 – 1996 Gymnasium Bergen a. Rügen

Abschluss: Abitur

1992 – 1994 Gymnasium Garz

1984 – 1992 Polytechnische Oberschule Poseritz / Realschule Poseritz