

Aus dem Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere,  
Dummerstorf und dem  
Institut für Nutztierwissenschaften und Technologie  
der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät, Universität Rostock

---

**Untersuchung von Zusammenhängen zwischen peripartalen  
Stoffwechselbelastungen und regulatorischen Aspekten des  
Glucosestoffwechsels sowie Milchleistung und Ovarfunktion  
bei Hochleistungskühen**

Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
doctor agriculturæ (Dr. agr.)  
an der  
Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Rostock

vorgelegt von  
Dipl.- Ing. agr. (FH) Guido Stürmer  
aus Osterburg

Rostock, 20. Oktober 2009

1. Gutachter: Prof. Dr. habil. Elmar Mohr,  
Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät,  
Universität Rostock
2. Gutachter: Prof. Dr. habil. Wilhelm Kanitz,  
Forschungsbereich: Fortpflanzungsbiologie,  
Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher  
Nutztiere (FBN), Dummerstorf
3. Gutachter: Prof. Dr. habil. Martin Wähner,  
Fachbereich Landwirtschaft, Ökotrophologie und  
Landschaftsentwicklung,  
Hochschule Anhalt (FH), Bernburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: 13. April 2010

**Meiner Familie**

<b>Inhaltsverzeichnis</b>		<b>Seite</b>
<b>Verzeichnis der Abkürzungen</b> .....		<b>IV</b>
<b>Verzeichnis der Tabellen im Text</b> .....		<b>VI</b>
<b>Verzeichnis der Tabellen im Anhang</b> .....		<b>VI</b>
<b>Verzeichnis der Abbildungen</b> .....		<b>VII</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung und Zielstellung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b> .....	<b>2</b>
2.1	Glucosestoffwechsel bei Milchkühen .....	2
2.1.1	Allgemeine Bedeutung .....	2
2.1.2	Besonderheiten beim Wiederkäuer .....	4
2.1.3	Gluconeogenese .....	6
2.1.4	Schlüsselenzyme der Gluconeogenese .....	9
2.2	Die Milchkuh im peripartalen Zeitraum .....	14
2.2.1	Veränderungen und Belastungen des Stoffwechsels .....	14
2.2.2	Zootechnische Parameter .....	21
2.2.2.1	Trockensubstanzaufnahme .....	21
2.2.2.2	Energiebedarf .....	22
2.2.2.3	Milchleistung .....	23
2.2.2.4	Energiebilanz .....	24
2.2.2.5	Rückenfettdicke .....	26
2.2.3	Stoffwechselmetabolite .....	29
2.2.3.1	Freie Fettsäuren .....	29
2.2.3.2	Betahydroxybutyrat .....	32
2.2.3.3	Glucose .....	35
2.2.4	Hormone .....	37
2.2.4.1	Insulin .....	37
2.2.4.2	Glucagon .....	39
2.2.4.3	Insulin-like growth factor-1 .....	40
2.2.4.4	Leptin .....	42
2.2.5	Leberparameter .....	44
2.2.5.1	Fettgehalt .....	44
2.2.5.2	Glykogengehalt .....	46
2.2.5.3	Schlüsselenzyme der Gluconeogenese .....	47
2.2.6	Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation .....	50
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>55</b>
3.1	Experimenteller Ansatz .....	55
3.2	Experimentelles Design .....	55
3.3	Probanden .....	57
3.3.1	Gruppeneinteilung .....	57

3.3.2	Stoffwechselgesundheit .....	57
3.3.3	Haltung .....	58
3.3.4	Fütterung .....	59
3.4	Tierexperimenteller Teil .....	60
3.4.1	Rückenfettdicke .....	60
3.4.2	Lebendmasse .....	61
3.4.3	Futtermittelaufnahme .....	61
3.4.4	Milchleistung .....	62
3.4.5	Energiebilanz .....	62
3.4.6	Leberbiopsie .....	63
3.4.7	Blutentnahme .....	64
3.4.8	Milchproben .....	64
3.5	Laboranalytischer Teil .....	65
3.5.1	Milchinhaltsstoffe .....	65
3.5.2	Aufbereitung und Archivierung der Blutproben .....	65
3.5.3	Stoffwechselmetabolite .....	65
3.5.3.1	Freie Fettsäuren .....	65
3.5.3.2	Betahydroxybutyrat .....	66
3.5.3.3	Glucose .....	66
3.5.4	Hormone .....	66
3.5.4.1	Insulin, Glucagon und Leptin .....	66
3.5.4.2	Insulin-like growth factor-1 .....	67
3.5.4.3	Progesteron .....	67
3.5.5	Leberparameter .....	68
3.5.5.1	Fettgehalt .....	68
3.5.5.2	Glykogengehalt .....	69
3.6	Quantitative mRNA-Analysen .....	69
3.7	Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Früh-laktation .....	71
3.8	Statistische Auswertung .....	72
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>74</b>
4.1	Rückenfettdicke .....	74
4.2	Trockensubstanzaufnahme .....	75
4.3	Milchleistung .....	76
4.3.1	Milchmengenleistung .....	77
4.3.1.1	Fettkorrigierte Milchmenge .....	77
4.3.2	Milchinhaltsstoffe .....	78
4.3.2.1	Fett .....	78
4.3.2.2	Eiweiß .....	79
4.3.2.3	Laktose .....	80
4.4	Energiebilanz .....	81
4.5	Metabolite und Hormone .....	83
4.5.1	Metabolite .....	83
4.5.1.1	Freie Fettsäuren .....	83

4.5.1.2	Betahydroxybutyrat .....	84
4.5.1.3	Glucose .....	86
4.5.2	Hormone .....	87
4.5.2.1	Insulin .....	87
4.5.2.2	Glucagon .....	88
4.5.2.3	Glucagon/Insulin-Verhältnis .....	90
4.5.2.4	Insulin-like growth factor-1 .....	91
4.5.2.5	Leptin .....	92
4.6	Leberparameter .....	93
4.6.1	Fett (gesamte Lipide) .....	93
4.6.2	Glykogen .....	94
4.6.3	Pyruvatcarboxylase .....	96
4.6.4	Cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase .....	97
4.6.5	Mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase .....	98
4.6.6	Glucose-6-phosphatase .....	99
4.7	Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation .....	100
4.7.1	Erste luteale Aktivität in der Frühlaktation .....	100
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>102</b>
5.1	Material und Methoden .....	102
5.1.1	Untersuchungsansatz .....	102
5.1.2	Leberfettgehalt als Indikator der peripartalen Stoffwechselbelastung .....	103
5.2	Ergebnisse .....	104
5.2.1	Zootechnische Parameter .....	104
5.2.2	Stoffwechselmetabolite .....	112
5.2.3	Hormone .....	115
5.2.4	Leberparameter .....	119
5.2.5	Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation .....	125
5.3	Schlussfolgerungen .....	127
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>129</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>132</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>135</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>171</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>173</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>175</b>
	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>176</b>

## Verzeichnis der Abkürzungen

Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
Acyl-CoA	Acyl-Coenzym A
a.p.	ante partum
ATP	Adenosintriphosphat
AWS	Anwelksilage
BHB	Betahydroxybutyrat
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
C.I.	Corpus luteum
CP	Crossing point
CPT-1	Carnitin-Palmityl-Transferase-1
C2	chemische Verbindung mit zwei Kohlenstoffatomen
C3	chemische Verbindung mit drei Kohlenstoffatomen
cytosol.	cytosolisch
d	Tag
DNA	deoxyribonucleic acid
EB	Energiebilanz
et al.	et alii
e.V.	eingetragener Verein
FBN	Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere
FFS	Freie Fettsäuren
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GTP	Guanosintriphosphat
G6Pase	Glucose-6-phosphatase
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
IRMA	Immuno-radiometrischer Assay
ISO	Internationale Organisation für Normung
kg <sup>0,75</sup>	metabolisches Körpergewicht
LFG	Leberfettgehalt
LH	Luteinisierendes Hormon
LS-Means	Least-square-means
MDH	Malatdehydrogenase
min <sup>-1</sup>	Umdrehungen pro Minute
MJ	Megajoule
mitoch.	mitochondrial
mmol	Millimol
mod.	modifiziert
mRNA	messenger ribonucleic acid
mU	Milli international unit
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (reduzierte Form)
NEL	Netto Energie Laktation

NEFA	non-esterified fatty acids
nmol	Nanomol
nXP	nutzbares Rohprotein
OS	Originalsubstanz
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PC	Pyruvatcarboxylase
PCR	polymerase chain reaction
PDH	Pyruvatdehydrogenase
PEP	Phosphoenolpyruvat
PEPCK	Phosphoenolpyruvatcarboxykinase
PEPCK-C	cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase
PEPCK-M	mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase
p.p.	post partum
P4	Progesteron
Rfa	Rohfaser
RIA	Radioimmunoassay
(RT)-PCR	Reverse transcriptase polymerase chain reaction
SAS	Statistical analysis system
SEM	Standard error of the mean
TS	Trockensubstanz
u.	und
unvollst.	unvollständig
µU	Micro international unit
v.a.	vor allem
VLDL	very low density lipoprotein
vol	Volumen
vollst.	vollständig
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert

## Verzeichnis der Tabellen im Text

Tab. 1	Untersuchungsparameter und Untersuchungszeitpunkte .....	56
Tab. 2	Eingesetzte Futterrationen .....	59
Tab. 3	Assays, Testkits sowie Assay-Variationskoeffizienten der Hormonanalysen in Blut und Milch .....	68
Tab. 4	Verwendete Primer .....	70
Tab. 5	Anzahl und Anteil Tiere mit „früher“ bzw. „späterer“ erster lutealer Aktivität p.p. in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt .....	101

## Verzeichnis der Tabellen im Anhang

Tab. A1	Leberfettgehalt (gesamte Lipide) am 1., 10., 21. Tag p.p., Mittelwert und resultierende Gruppenzuordnung der Probanden .....	171
Tab. A2	Progesteronkonzentrationen im Endgemelk .....	172

## Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1	Glucosehaushalt einer laktierenden Milchkuh; mod. nach ROSSOW (2003c) .....	3
Abb. 2	Hepatische Gluconeogenese (vereinfachte Darstellung) .....	13
Abb. 3	Stoffwechsel freier Fettsäuren in den Hepatozyten zu Laktationsbeginn; mod. nach ROSSOW (2003a).....	18
Abb. 4	Typischer Verlauf der peripartalen NEFA- und BHB- Konzentration bei Milchkühen; nach ROSSOW (2003b) .....	34
Abb. 5	Peripartale Glucosekonzentration von Milchkühen bei einem Konzentratfutteranteil von 30 % in der Ration (REIST et al. 2003) .....	37
Abb. 6	Typischer Verlauf der peripartalen Insulin- und IGF-1-Konzentration bei Milchkühen; nach BLUM (1992) .....	42
Abb. 7	Peripartale Leptinkonzentration bei multiparen Milchkühen (BLOCK et al. 2001) .....	43
Abb. 8	Topographie des sakralen Rückenfettdickenmesspunktes (STAUFENBIEL 1992) .....	60
Abb. 9	Leberbiopsienadel „Berliner Modell“ und Topographie der Punktionsstelle .....	63
Abb. 10	Mittlere Rückenfettdicke ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 60. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	74
Abb. 11	Mittlere Trockensubstanzaufnahme ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 7. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	76
Abb. 12	Mittlere fettkorrigierte Milchmenge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p. ....	77
Abb. 13	Mittlerer Milchfettgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p. ....	78
Abb. 14	Mittlerer Milcheiweißgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p. ....	80
Abb. 15	Mittlerer Laktosegehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p. ....	81
Abb. 16	Mittlere Energiebilanz ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 14., 21. und 56. Tag p.p. ....	82
Abb. 17	Mittlere Serum-NEFA-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	84

Abb. 18	Mittlere Serum-BHB-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	85
Abb. 19	Mittlere Serum-Glucosekonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	86
Abb. 20	Mittlere Plasma-Insulinkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	88
Abb. 21	Mittlere Plasma-Glucagonkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	89
Abb. 22	Mittleres Glucagon/Insulin-Verhältnis ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	90
Abb. 23	Mittlere Plasma-IGF-1-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	91
Abb. 24	Mittlere Plasma-Leptinkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p. ....	92
Abb. 25	Mittlerer Leberfettgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	94
Abb. 26	Mittlerer Glykogengehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	95
Abb. 27	Mittlere Pyruvatcarboxylase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	96
Abb. 28	Mittlere cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	97
Abb. 29	Mittlere mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	98
Abb. 30	Mittlere Glucose-6-phosphatase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p. ....	99
Abb. 31	Anteil Tiere mit erster lutealer Aktivität in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 21. - 56. Tag p.p. ....	100

# 1 Einleitung und Zielstellung

In den zurückliegenden 15 Jahren wurde die durchschnittliche Milchleistung der Herdbuchkühe der Deutschen Holstein-Population durch Selektion und verbesserte Ernährung um ca. 3000 kg auf aktuell mehr als 8700 kg gesteigert. Spitzenbetriebe produzieren derzeit mit ihren Hochleistungskühen mehr als 11000 kg Milch je Kuh und Jahr.

Die Realisierung einer derart hohen Milchleistung wird erst durch eine entsprechend hohe Stoffwechselleistung möglich. Der Stoffwechsel ist ein quantitativer Prozess, bei dem höhere Leistungen auch mit höheren Belastungen assoziiert sind. Im geburtsnahen Zeitraum wird der Stoffwechsel von Milchkühen durch das peripartale Energiedefizit und die daraus resultierenden Adaptationsprozesse belastet, die Auswirkungen auf die gleichzeitige Ausprägung von produktiven und funktionalen Merkmalen haben. Die Ursachen für die vorhandenen interindividuellen Unterschiede in Bezug auf die Merkmalsausprägungen werden in interindividuell differenten, metabolischen Belastungen und/oder der variierenden Adaptationsfähigkeit der Tiere vermutet.

- Ausgehend davon bestand das Ziel der eigenen Arbeit darin, bei intensiv phänotypisierten Hochleistungskühen anhand ausgewählter Stoffwechselindikatoren Faktoren zu charakterisieren, welche das Ausmaß der hepatischen Fettakkumulation als Maß einer Stoffwechselbelastung beeinflussen.
- Ein weiteres Ziel war es, Zusammenhänge zwischen der anhand der hepatischen Fettakkumulation quantifizierten Belastung des Stoffwechsels und der Genexpression für ausgewählte Schlüsselenzyme der hepatischen Gluconeogenese zu untersuchen.
- Darüber hinaus sollten die Beziehungen zwischen dem Ausmaß der Stoffwechselbelastung, ausgewählten Milchleistungsparametern und dem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation charakterisiert werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Glucosestoffwechsel bei Milchkühen

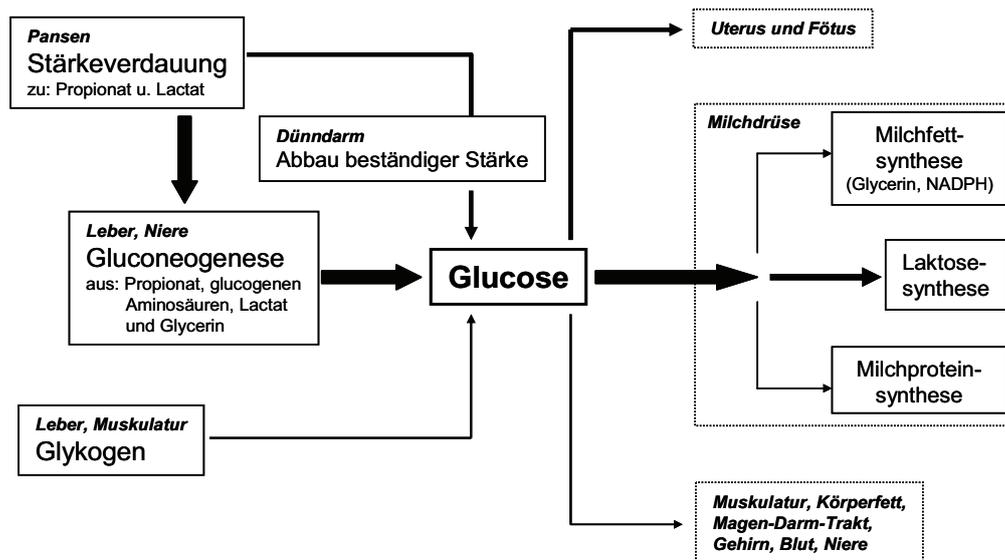
#### 2.1.1 Allgemeine Bedeutung

Die Glucose, ein Kohlenhydrat mit sechs C-Atomen (Hexose), ist auch für den Wiederkäuer, obwohl nur in sehr geringen Mengen oral aufgenommen, eines der wichtigsten energieliefernden Substrate (KREUTZIG 1994; ORTIGUES-MARTY et al. 2003). Glucose ist am Aufbau kohlenhydratreicher Verbindungen wie Laktose und Glykogen beteiligt (HOCQUETTE et al. 1998). Für bestimmte Gewebe wie Nervengewebe, Erythrozyten und das Nierenmark ist Glucose essentiell als Energielieferant. Glucose dient über die Glykolyse, den Citratzyklus und die Atmungskette zum Aufbau von Adenosintriphosphat (ATP) sowie zur Bereitstellung des Reduktionsäquivalents Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) über den Pentose-Phosphat-Weg (HOCQUETTE et al. 1998; LÖFFLER und PETRIDES 1997).

Bei Milchkühen ist die Glucoseversorgung insbesondere für die Milchdrüse, in der große Mengen des Metaboliten zur Laktosesynthese verwendet werden, sowie für das Fötenwachstum von großer Bedeutung (CHAIYABUTR et al. 1998). Nach ROSSOW (2003c) werden bei einer laktierenden Milchkuh zwischen 60 % und 70 % der verfügbaren Glucosemenge zur mammären Laktosesynthese, zwischen 20 % und 30 % über den Pentose-Phosphat-Weg zur NADPH-Generierung für die Fettsäuresynthese in Milchdrüse und anderen Körperfettgeweben und geringe Anteile für die Aufrechterhaltung des Zellstoffwechsels lebenswichtiger Organe sowie zur Bildung von Glycerin verwendet.

Der obligate Glucosebedarf des Nervengewebes, der Erythrozyten und des Nierenmarks liegt nach RUSSELL et al. (1986) bei  $4 \text{ g/kg}^{0,75}$ . Während der Laktation werden bei einem Laktosegehalt von 4,8 % in der Milch ca. 72 g Glucose für die Synthese von einem Liter Milch benötigt (DAVIS und COLLIER 1985; MATTHE et al. 2000). Bei einer Milchleistung von 50 kg Milch muss eine Milchkuh somit täglich ca. 3,6 kg Glucose zusätzlich zum Grundumsatz synthetisieren (MATTHE et al. 2000). Da aufgrund der osmotischen Wirkung der Glucose die Milchmenge vor allem durch die Laktoseproduktion bestimmt

wird, wird der Aufbau von Laktose aus Glucose als der die Milchsynthese begrenzende Schritt angesehen und gilt als Schlüssel für hohe Milchleistungen (RIGOUT et al. 2002; ROSSOW 2003c; BLUM 2004; BROCKMAN 2005; KOMATSU et al. 2005). Die Abbildung 1 zeigt einen schematischen Überblick über den Glucosehaushalt einer laktierenden Milchkuh:



**Abb. 1:** Glucosehaushalt einer laktierenden Milchkuh; mod. nach ROSSOW (2003c)

Die physiologische Blutglucosekonzentration liegt bei gesunden Milchkuhen im Bereich von 3,3 - 4,4 mmol/l (ROSENBERGER et al. 1990) und unterliegt einer ausgeprägten homöostatischen Regulation (NOCEK und TAMMINGA 1991). Die Gluconeogenese, die endogene Biosynthese von Glucose aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen, ist Teil dieses Regulationsmechanismus.

HERBEIN et al. (1985) identifizierten Insulin und Glucagon als primäre Regulatoren der Blutglucosekonzentration, wobei Insulin dabei vermutlich die wichtigere Rolle spielt. Für die hormongesteuerte Regulation sind neben Insulin und Glucagon auch die Katecholamine und Glucocorticosteroide von Bedeutung. Die Hepatozyten geben ständig Glucose an das Blut ab, wobei das Ausmaß der Abgabe von der Höhe der Blutglucosekonzentration abhängig ist. Eine erhöhte Glucosekonzentration ist mit einer geringeren Abgabe durch die Hepatozyten sowie mit einer Steigerung der Glucoseaufnahme und -oxidation in

den Zellen der Leber, des Fettgewebes und der Skelettmuskulatur verbunden. Darüber hinaus kommt es bei hohen Glucosekonzentrationen im Blut zur Hemmung der Gluconeogenese sowie zur Stimulation der Glykogensynthese in Leber und Skelettmuskulatur. Gleichzeitig wird auch die Synthese von Triglyceriden in Hepatozyten und Fettgeweben forciert.

Ein abgesenkter Blutglucosespiegel fördert, unterstützt durch Adrenalin, Glucagon und Glucocorticosteroide, die hepatische Glucoseausschüttung. Insulin hemmt diesen Vorgang. Mit dem Absinken des Glucosegehaltes steigt die Glucosemobilisation aus dem Glykogen der Leber. Gleichzeitig nimmt, stimuliert durch die Sekretion von Glucagon, Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) und Glucocorticosteroid, auch die Gluconeogenese zu. Angeregt durch Somatotropin und Adrenalin wird die Mobilisation langkettiger Fettsäuren in den Fettgeweben verstärkt.

### **2.1.2 Besonderheiten beim Wiederkäuer**

Der Glucosestoffwechsel adulter Wiederkäuer unterscheidet sich in vielen Aspekten von dem monogastrischer Spezies (HERDT 1988b; GEELEN und WENSING 2006). Mit einer mittleren Glucosekonzentration von 3,3 - 4,4 mmol/l (ROSENBERGER et al. 1990) haben Milchkühe eine deutlich geringere Glucosekonzentration im Blut als monogastrische Spezies. Beim Monogastrier werden die über die Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate zu Glucose und anderen Monosacchariden abgebaut, über den Darm und die Pfortader absorbiert, und stehen so als Energiequelle für den Körperstoffwechsel zur Verfügung.

Beim Wiederkäuer werden die mit der Diät aufgenommenen Kohlenhydrate (Zellulose, Stärke, Zucker) im anaeroben Milieu der Vormägen durch mikrobielle Fermentation zu flüchtigen Fettsäuren (v.a. Acetat, Butyrat, Propionat) und Lactat umgesetzt (BERGMAN et al. 1974; HUTJENS 1996; OWENS et al. 1998; MURONDOTI et al. 2004). Die molaren Anteile von mikrobiell erzeugtem Acetat, Propionat und Butyrat, welche aufgrund ihrer Struktur auch als kurzkettige Fettsäuren bezeichnet werden, variieren in Abhängigkeit vom Ernährungszustand und können von 70 : 20 : 10 bei einer

Heuration bis zu 50 : 35 : 15 bei einer Getreideration betragen (JENTSCH und WITTENBURG 1993). Täglich können so ca. 3,0 - 3,5 kg Acetat, 1,5 - 3,0 kg Propionat und 1,0 - 1,5 kg Butyrat gebildet werden (KIRCHGESSNER 1992). Die kurzkettigen Fettsäuren werden aus dem Pansen resorbiert und bilden die Hauptenergiequelle des Wiederkäuers (TITUS und AHEARN 1992; VON ENGELHARDT und BREVES 2000). Sie werden zur Gluconeogenese sowie zur Körper- und Milchfettsynthese verwendet. Im Gegensatz zu Butyrat und Acetat kann Propionat dabei direkt zur Gluconeogenese genutzt werden (HERDT 2000). Butyrat, Acetat und andere C2-Bruchstücke aus dem Lipidstoffwechsel benötigen Oxalacetat, eine Schlüsselsubstanz im Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel, als Reaktionspartner für die Kondensation zu Citrat und damit für ihren Eintritt in den Citratzyklus (STRYER 1981).

Der rohfaserreich gefütterte Wiederkäuer kann nur eine für den Gesamtorganismus vernachlässigbar kleine Menge der aufgenommenen Glucose direkt über die Pansenepithelien resorbieren (ASCHENBACH et al. 2000 a,b). Darüber hinaus scheint die Kapazität zur Hydrolyse anflutender Stärke sowie zur Absorption von Glucose im Dünndarm des Wiederkäuers begrenzt zu sein (KREIKEMEIER et al. 1991; HUNTINGTON 1997). So gelangen selbst bei kraftfutterreichen Diäten maximal 25 % der enthaltenen Stärke als „bypass starch“ in das Duodenum, können durch Carbohydrasen verdaut und als Glucose resorbiert werden (HUNTINGTON et al. 1980; JANES et al. 1985). Nach STANGASSINGER (1997) können bei einer Hochleistungskuh auch bei Verabreichung einer stärkereichen Diät nur maximal 16 % der mit dem Futter zugeführten Glucose im Verdauungstrakt resorbiert werden. Wiederkäuer sind daher zur Deckung ihres Glucosebedarfs auf die endogene Biosynthese von Glucose aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen, die Gluconeogenese, angewiesen (BERGMAN 1973; ROSSOW 2003c; DRACKLEY 2004; VELEZ und DONKIN 2005; NAFIKOV und BEITZ 2007).

Trotz ausgeprägter homöostatischer Regulation (NOCEK und TAMMINGA 1991) scheint es im ersten Laktationsdrittel für eine Hochleistungskuh schwierig zu sein, die Glucoseproduktion auf den enormen mammären Verbrauch auszurichten. Die Bereitstellung der Glucose wird vor allem durch eine

intensiver ablaufende Gluconeogenese sowie die Absenkung des Glucoseverbrauchs in extramammären Geweben gewährleistet.

### 2.1.3 Gluconeogenese

Als Gluconeogenese (Kompositum aus *gluco-* Zucker- und dem griechischen *neojénnissis-* die Neugeburt, Neuschaffung) bezeichnet man die endogene Biosynthese von Glucose aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen. Die Glucoseneubildung findet vorwiegend (85 - 90 %) in den Hepatozyten (LINDSAY 1970; KOLB 1989; WEEKES 1991; BROCKMAN 1993), aber auch (10 - 15 %) in den Zellen des proximalen Tubulussystems der Nierenrinde (BERGMAN et al. 1974; KOLB 1989) statt. Aus chemischer Sicht entspricht die Gluconeogenese teilweise einer Umkehr der Glykolyse.

Die für die Glykolyse typischen Reaktionsschritte:

- Umwandlung von Glucose in Glucose-6-phosphat,
- von Fructose-6-phosphat in Fructose-1,6-bisphosphat und
- die Reaktion von Phosphoenolpyruvat (PEP) zu Pyruvat

werden in der Gluconeogenese in umgekehrter Reihenfolge wie folgt umgangen:

- Carboxylierung von Pyruvat zu Oxalacetat unter ATP-Verbrauch (katalysiert durch Pyruvatcarboxylase) und die anschließende phosphorylierende Decarboxylierung von Oxalacetat zu Phosphoenolpyruvat unter GTP-Verbrauch (katalysiert durch Phosphoenolpyruvatcarboxykinase)
- Reaktion von Fructose-1,6-bisphosphat zu Fructose-6-phosphat (katalysiert durch Fructose-1,6-bisphosphatase)
- Umsetzung von Glucose-6-phosphat zu Glucose (katalysiert durch Glucose-6-phosphatase).

Der Wiederkäuer deckt seinen metabolischen Grundbedarf und den Glucosebedarf für die mammäre Laktogenese hauptsächlich durch die hepatische Gluconeogenese (REYNOLDS und HARMON 1994; VELEZ und DONKIN 2005; NAFIKOV und BEITZ 2007). Bei Hochleistungskühen stammen bis zu 70 % der metabolisierbaren Glucosemenge aus der Gluconeogenese

(HUNTINGTON 1997), was den essentiellen Charakter der Gluconeogenese für den Glucosestoffwechsel des Wiederkäuers unterstreicht (BERGMAN 1973). Zu Beginn der Laktation nimmt mit steigendem Glucosebedarf auch die Gluconeogeneserate zu (KOLB 1989; CHUDY 1999).

Die Gluconeogeneserate ist vom Glucosebedarf, der Substratverfügbarkeit, der relativen Konzentration glucogener Ausgangssubstrate (Precursoren) und der hormonellen Konstellation abhängig (LOMAX und BAIRD 1983; HUNTINGTON 1990; DONKIN und ARMENTANO 1995). Als Precursoren für die Glucoseneusynthese dienen hauptsächlich Propionat, Lactat, glucogene Aminosäuren und Glycerin (GRIZARD et al. 1986; DONKIN 1999; DRACKLEY et al. 2001), welche an unterschiedlichen Positionen in den gluconeogenetischen Stoffwechselweg eingeschleust werden (Abbildung 2). Propionat ist ein C3-Körper, der nach dem Einfügen eines weiteren C-Atoms auf der Stufe des Succinyl-CoA in den Citratzyklus eingeschleust wird und damit über Oxalacetat für die Gluconeogenese verwendet werden kann. Lactat und die glucogenen Aminosäuren Alanin, Cystein, Glycin, Serin, Threonin und Tryptophan können über Pyruvat zu Oxalacetat umgesetzt und zur Gluconeogenese verwendet werden, wobei Alanin dabei die größte Bedeutung hat (OVERTON et al. 1999). Die genannten Precursoren werden im Cytosol zu Pyruvat umgebaut und können so die Mitochondrienwand passieren. Innerhalb des Mitochondriums kann das Pyruvat entweder durch eine oxidative Decarboxylierung zu Acetyl-CoA und CO<sub>2</sub> oder durch eine ATP-abhängige Carboxylierung zu Oxalacetat umgesetzt werden. Die oxidative Decarboxylierung des Pyruvats wird durch die Pyruvatdehydrogenase (PDH), die ATP-abhängige Carboxylierung durch die Pyruvatcarboxylase (PC) katalysiert. Lactat wird, katalysiert durch das Enzym Lactatdehydrogenase (LDH), zu Pyruvat oxidiert und kann so über Oxalacetat zur Gluconeogenese genutzt werden. Die Anbindung des Glycerins an die Glucosesynthese erfolgt anhand einer durch die Glycerinkinase katalysierten Umwandlung von Glycerin in Glycerin-3-phosphat und deren durch das Enzym Glycerin-3-phosphatdehydrogenase katalysierte Oxidation zu Dihydroxyacetonphosphat.

Der Anteil der einzelnen Precursoren an der Gesamtnutzung variiert in Abhängigkeit von der Stoffwechsellage (DANFAER 1999; REYNOLDS et al. 2003). Propionat gilt bei Wiederkäuern als wichtigster Precursor für die Glucosesynthese aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen (LEAN et al. 1992; SEAL und REYNOLDS 1993; DRACKLEY et al. 2001; GEELEN und WENSING 2006). Sein Anteil an der Gesamtnutzung wird von den meisten Autoren mit 50 - 60 % angegeben (LOMAX und BAIRD 1983; DANFAER et al. 1995; DANFAER 1999; REYNOLDS et al. 2003), kann jedoch nach Angaben von SEAL und REYNOLDS (1993) in einem Bereich zwischen 32 % und 73 % variieren. Glucogene Aminosäuren, Lactat und Glycerin sind bei ausgeglichener Energiebilanz von untergeordneter Bedeutung (GRIZARD et al. 1986). Die Aufnahme von Propionat in das Cytosol der Hepatozyten erfolgt insulinunabhängig (BAIRD et al. 1980; BROCKMAN 1990), während der Umsatz von glucogenen Aminosäuren, Lactat und Glycerin signifikant durch Insulin gehemmt wird (BROCKMAN 1985; DONKIN 1999).

In einer Phase mit negativer Energiebilanz nimmt aufgrund der geringeren Propionatproduktion im Pansen (DRACKLEY et al. 2001) die Bedeutung glucogener Aminosäuren, des Lactats und des Glycerins als Glucoseprecursor deutlich zu (LOMAX und BAIRD 1983; DRACKLEY et al. 2001; REYNOLDS et al. 2003). Nach BELL (1995a) können im Zeitraum um den Partus zwischen 15 % und 20 % des Glucosebedarfs durch die Nutzung des durch die verstärkte Lipolyse in den Fettgeweben freigesetzten Glycerins abgedeckt werden. Bis zu 30 % der Glucose können nun aus glucogenen Aminosäuren, bis zu 15 % aus Lactat gebildet werden (SEAL und REYNOLDS 1993). REYNOLDS et al. (2003) geben für Propionat, glucogene Aminosäuren, Lactat und Glycerin Werte von 50 - 60 %, 20 - 30 %, 15 - 20 %, 2 - 4 % an. Glucogene Aminosäuren, die entweder intestinal aus der Diät resorbiert bzw. durch Proteinolyse in der Skelettmuskulatur freigesetzt wurden, sind zusammen mit dem durch Lipolyse in den Fettgeweben freigesetzten Glycerin die quantitativ wichtigsten Glucosevorläufer im Zeitraum um den Partus (REYNOLDS et al. 2003). Bei Tieren mit negativer Energiebilanz kann nach OVERTON et al. (1999) bereits

die Glucosesynthese aus der Aminosäure Alanin die Synthese aus Propionat übersteigen.

Neben der Eigenregulation durch Glucose erfolgt die Regulation der Gluconeogenese durch eine hormongesteuerte Aktivitätsregulation der für diesen Stoffwechselweg essentiellen Enzyme (MOORE et al. 1998; DONKIN 1999; BROCKMAN 2005)

#### **2.1.4 Schlüsselenzyme der Gluconeogenese**

Pyruvatcarboxylase (PC), Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK) und Glucose-6-phosphatase (G6Pase) gelten als Schlüsselenzyme der hepatischen Gluconeogenese (TILGHMAN et al. 1974; LÖFFLER und PETRIDES 1997; WALLACE et al. 1998; SHE et al. 1999; VELEZ und DONKIN 2004,2005). Die Abbildung 2 zeigt die Lokalisation der Enzyme innerhalb des Stoffwechselweges der hepatischen Gluconeogenese.

Die Aktivität der Schlüsselenzyme beeinflusst maßgeblich die Gluconeogeneserate (ROGNSTAD 1979; PILKIS und GRANNER 1992; GIRARD et al. 1992; NORDLIE et al. 1999; DONKIN 1999). Darüber hinaus wird durch die Aktivität der einzelnen Enzyme mitbestimmt, welche Precursoren in welchem Umfang zur Gluconeogenese genutzt werden (BROCKMAN 2005; JITRAPAKDEE et al. 2006; AGCA und DONKIN 2007).

PC ist der Katalysator der innerhalb von Mitochondrien stattfindenden ATP-abhängigen Carboxylierung von Pyruvat zu Oxalacetat und ist damit das wichtigste Enzym bei der hepatischen Glucosesynthese aus Lactat, Pyruvat und glucogenen Aminosäuren (JITRAPAKDEE und WALLACE 1999; GREENFIELD et al. 2000; VELEZ und DONKIN 2004; FERREIRA und WEISS 2007). Die Pyruvatcarboxylase ist von großer Bedeutung bei der Steuerung von Substratströmen. VELEZ und DONKIN (2005) geben für den Zusammenhang zwischen der hepatischen PC mRNA-Menge und der Gluconeogeneserate aus Lactat einen signifikanten, positiven Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,64$  an.

PEPCK katalysiert den Aufbau von Phosphoenolpyruvat (PEP) aus Oxalacetat (AGCA et al. 2002; WILLIAMS et al. 2006). Diese Reaktion wird beim Monogaster als entscheidender Schritt für die Gluconeogenese aus

C3-Vorstufen angesehen (O'BRIEN und GRANNER 1990; PILKIS und GRANNER 1992). Abgeleitet von der interzellulären Lokalisation wird bei den meisten Spezies zwischen der mitochondrialen Form (PEPCK-M) und der cytosolischen Form (PEPCK-C) des Enzyms unterschieden (GARBER et al. 1972; AGCA et al. 2002; WILLIAMS et al. 2006). Bei allen Säugetieren haben die beiden Isoformen gleiche kinetische Eigenschaften und die gleiche molekulare Masse, werden aber von unterschiedlichen Genen kodiert (HANSON und PATEL 1994; HANSON und RESHEF 1997; AGCA et al. 2002). Die spezifische Aktivität beider Isoformen unterscheidet sich bei den unterschiedlichen Spezies (GARBER et al. 1972). In den Hepatozyten von Wiederkäuern haben die cytosolische und die mitochondriale Form etwa die gleiche Aktivität (TAILOR et al. 1971; GARBER et al. 1972).

Die Gluconeogenese aus Lactat wird vordergründig durch PEPCK-M (WATFORD et al. 1981; HANSON und PATEL 1994), die Nutzung anderer glucogener Substrate durch PEPCK-C katalysiert (WATFORD et al. 1981).

Voraussetzung für die Gluconeogenese aus Propionat, Pyruvat bzw. glucogenen Aminosäuren ist, dass beim Aufbau von Phosphoenolpyruvat im Cytosol gleichzeitig NADH zur späteren Nutzung bei der Glycerinaldehyd-3-phosphat-dehydrogenase-Reaktion generiert wird. Dazu wird das aus Propionat, Pyruvat und glucogenen Aminosäuren metabolisierte Oxalacetat in Malat umgewandelt, passiert mit Hilfe des „Malat-Shuttle-Systems“ die Mitochondrienmembran und wird im Cytosol durch die Malatdehydrogenase (MDH) unter NADH-Generation erneut zu Oxalacetat aufgebaut. Katalysiert durch PEPCK-C erfolgt die Metabolisierung des Oxalacetats zu Phosphoenolpyruvat. Das bei der cytosolischen Remetabolisierung des Oxalacetats generierte NADH wird bei der Glycerinaldehyd-3-phosphat-dehydrogenase-Reaktion wieder reduziert.

Der Stoffwechselweg des Lactats führt über die PEPCK-M in die Gluconeogenese. Das bedeutet, dass das aus dem Lactat über Pyruvat aufgebaute Oxalacetat innerhalb der Mitochondrien, katalysiert durch die mitochondriale Form der PEPCK, zu Phosphoenolpyruvat umgesetzt wird. Das so generierte Phosphoenolpyruvat passiert die Mitochondrienmembran und

steht im Cytosol für die weitere Verstoffwechslung in der Gluconeogenese zur Verfügung. Das für die Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase-Reaktion benötigte NADH wird während der durch die Lactatdehydrogenase katalysierte Metabolisierung des Pyruvats aus Lactat generiert. Welcher glucogene Precursor mit Hilfe welcher Isoform von PEPCK zur Gluconeogenese genutzt wird, ist somit nicht nur von dem Substratangebot und der jeweiligen Enzymmenge bzw. Enzymaktivität, sondern auch von der NADH-Verfügbarkeit im Cytosol abhängig (GARBER et al. 1972).

G6Pase katalysiert am rauhen endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten den finalen Schritt der Reaktionsketten von Gluconeogenese und Glykogenolyse, die Hydrolyse von Glucose-6-phosphat zu Glucose (BARTHEL und SCHMOLL 2003).

Die Enzymmenge (Proteinmenge) in den Hepatozyten wird durch die Transkriptions- und Degenerationsrate der spezifischen mRNA bzw. durch eine Kombination beider Prozesse bestimmt (ZHANG et al. 1995; JITRAPAKDEE et al. 2006). Mit steigender mRNA-Menge erhöht sich bei Labornagern auch die Enzymmenge und damit die Enzymaktivität in der Leber (SALTO et al. 1999). GREENFIELD et al. (2000) und AGCA et al. (2002) fanden auch bei Milchkühen in der Transitperiode einen positiven, korrelativen Zusammenhang zwischen der mRNA-Menge und der Enzymaktivität von PC und PEPCK. Auch beim neonatalen Kalb sind die exprimierte mRNA-Menge für PC und die Aktivität des Enzyms positiv korreliert (HAMMON et al. 2003; HAGA et al. 2008).

Acetyl-CoA gilt als allosterischer Aktivator der Pyruvatcarboxylase (ATTWOOD und KEECH 1984; SASAKI et al. 1984; LEMAGIGRE und ROUSSEAU 1994; JITRAPAKDEE et al. 2006). Die Aktivität der PC wird aber auch von der Substratverfügbarkeit und dem ATP : ADP-Verhältnis beeinflusst (TAILOR et al. 1969). Darüber hinaus wurden für verschiedene Spezies Zusammenhänge zwischen dem Ernährungszustand und der PC-Aktivität beschrieben. Bei Nagern, Schweinen, Schafen und Rindern erhöht sich bei restriktiver Fütterung die PC-Aktivität (FILSELL et al. 1969; SOLING et al. 1970; WIMHURST und MANCHESTER 1970; TAILOR et al. 1971; LEMONS et al. 1986; VELEZ und DONKIN 2000,2005). Darüber hinaus wird die Aktivität der PC durch Hormone

wie Glucagon, Glucocorticoide und Schilddrüsenhormone stimuliert. Eine in der Laktationsmitte verabreichte 3,5-stündige Glucagoninfusion führte zu einem Anstieg der PC mRNA-Menge um 50 % (SHE et al. 1999), während eine kurzzeitige Glucagonbehandlung (4 Injektionen innerhalb 21 Stunden) während der Frühaktation keinen Einfluss auf die exprimierte PC mRNA-Menge hatte (WILLIAMS et al. 2006). WEINBERG und UTTER (1979) konnten zeigen, dass bei Ratten, bei denen das Schilddrüsenhormon T<sub>4</sub> auf den doppelten Konzentrationswert erhöht wird, auch die PC-Aktivität zunimmt. Durch die Behandlung mit Glucagon bzw. Glucocorticoiden erhöht sich bei Ratten die Pyruvatkonzentration im Mitochondrium, was zu einer gesteigerten Gluconeogenese führt (OWEN und HALESTRAP 1993; KRAUS-FRIEDMANN und FENG 1996).

Der Aktivitätsgrad des PEPCK-Enzyms wird weder allosterisch noch durch Phosphorylierungsreaktionen reguliert (AGCA et al. 2002). Vielmehr entscheiden Transkription und Aktivität der mRNA und die nach der Translation vorhandene Enzymmenge über dessen Aktivität (HANSON und RESHEF 1997). Die Aktivität der PEPCK-C wird durch die hormonelle und nährstoffabhängige Stimulation der Transkriptionsrate des PEPCK-C-Genes und die „Turnover-Rate“ seiner spezifischen mRNA festgelegt (HANSON und RESHEF 1997; AGCA et al. 2002). Hingegen scheint die Aktivität der PEPCK-M unreguliert und statisch zu sein (HANSON und RESHEF 1997). Die mitochondriale Form des Enzyms wird im Gegensatz zu dessen cytosolischer Form nicht hormonabhängig reguliert (WELDON et al. 1990; SAVON et al. 1993). Die wichtigsten Hormone bei der Transkriptionsregulation der PEPCK-C sind Insulin, Glucagon, Glucocorticoide und Thyroxin (AGCA et al. 2002). Während Glucagon, Glucocorticoide und Thyroxin die Transkription fördern, wirken Insulin und Intermediate des Glucosemetabolismus inhibierend (PILKIS und GRANNER 1992; O'BRIEN et al. 1995; HANSON und RESHEF 1997; JIANG und ZHANG 2003). Eine Insulinbehandlung verminderte bei Schafen die PEPCK-C-Aktivität (NARKEWICZ et al. 1993). Bei präruminanten Kälbern führte eine Insulinbehandlung zur Verminderung der hepatischen Gluconeogenese, während dies bei ruminanten Kälbern nicht mehr



## **2.2 Die Milchkuh im peripartalen Zeitraum**

### **2.2.1 Veränderungen und Belastungen des Stoffwechsels**

Als geburtsnaher Zeitraum wird die Zeitspanne vom Trockenstellen bis zum Erreichen der Peakleistung während der Frühaktation bezeichnet (ROSSOW 2002). SACHS (1987) beschrieb diesen Zeitabschnitt für die Milchkuh als eine „Gradwanderung im physiologischen Bereich“. In diesen Zeitraum fällt auch die Transitperiode (transition period), die kritische Phase des Überganges von der Hochträchtigkeit zur Frühaktation (DRACKLEY 2004). Diese wird von den meisten Autoren als der Zeitraum von 3 Wochen ante partum (a.p.) bis 3 Wochen post partum (p.p.) definiert (GRUMMER 1995; DRACKLEY 1999; ROSSOW 2002).

Während der Transitperiode unterliegt der Stoffwechsel der Milchkuh Belastungen, die durch die Spätphase der Gravidität, den Partus sowie die einsetzende Laktation hervorgerufen werden (GRUMMER 1995; DRACKLEY 1999, 2002; GERLOFF 2000; BLOCK et al. 2001).

Der Begriff „Peripartale Stoffwechselbelastung“ umfasst dabei sowohl die metabolischen Konsequenzen des peripartalen Energiedefizits als auch die mit den daraus resultierenden Adaptationsprozessen einhergehenden Veränderungen und Belastungen des Stoffwechsels.

Im geburtsnahen Zeitraum muss sich der Stoffwechsel der Milchkuh von eher anabolen Prozessen während der Trockenstehperiode infolge der mit dem Partus einsetzenden Milchsekretion auf vermehrt katabole Prozesse während der Laktation umstellen (LUCY et al. 1991; ROSSOW 2002). Die Adaptation an die sich ändernde Stoffwechselsituation ist mit erheblichen physiologischen, endokrinen und metabolischen Veränderungen verbunden (BELL 1995a; GRUMMER 1995; DRACKLEY 1999; DRACKLEY et al. 2001; REYNOLDS et al. 2003; JOUANY 2006) und stellt eine enorme Belastung für den Stoffwechsel einer Milchkuh dar.

Um in der späten Phase der Gravidität den Glucose- und Proteinbedarf des wachsenden Fötus abdecken zu können, kommt es sowohl zu Anpassungsreaktionen im maternalen Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel als auch zu Veränderungen im Fettstoffwechsel (BELL 1995a). Diese

Ausrichtung des maternalen Stoffwechsels an den sich verändernden Nährstoffbedarf des Fötus gilt als essenzielle Voraussetzung für die metabolischen Veränderungen zu Beginn der Laktation (BELL 1995a).

Nach McNAMARA (1991) beginnen der Wechsel der Stoffwechsellage und die damit verbundenen metabolischen Adaptationsprozesse bereits 30 Tage a.p. und steigern sich bis zum Partus. Während der letzten Trächtigtkeitswochen erhöht sich der Energiebedarf zur Versorgung des Uterus und des wachsenden Fötus exponential (BELL 1995b). Mit dem Partus steigt auch der Energiebedarf der laktierenden Milchdrüse sprunghaft an (STAUFENBIEL 1989; DRACKLEY et al. 2005), da sich deren Glucoseaufnahme um ein Vielfaches (fünf- bis neunfach) erhöht (BELL 1995b).

Aus energetischer Sicht ist die Frühaktation jedoch nicht nur im Hinblick auf die Milchleistung eine kritische Phase. Neben dem hohen mammären Glucosebedarf müssen auch die Puerperalphase mit Rückbildung des Uterus sowie die Wiederaufnahme der zyklischen Ovaraktivität energetisch kompensiert werden (STAUFENBIEL et al. 1991).

Im Gegensatz zum Energiebedarf nimmt jedoch das Futteraufnahmevermögen mit Annäherung an den Partus ab (HAYIRLI et al. 2003; FRENCH 2006), erreicht einen Minimalwert zum Partus (INGVARTSEN und ANDERSEN 2000) und steigt auch nach dem Partus langsamer als die Milchleistung an (STAUFENBIEL 1989; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Der Milchleistungspeak wird zwischen der 4. und 7. Woche p.p., die maximale Trockensubstanzaufnahme jedoch erst in der 8. - 22. Woche p.p. erreicht (STAUFENBIEL 1989; LUCY et al. 1991; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Die Folge ist der Eintritt der Milchkuh in eine Phase mit negativer Energiebilanz (DOMECQ et al. 1997b; BLOCK et al. 2001; DRACKLEY et al. 2001; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b; GRUMMER et al. 2004; RIZOS et al. 2008), deren Stärke und Dauer interindividuell stark variieren kann (BUTLER et al. 1981).

Aufgrund der nicht bedarfsgerechten Trockensubstanzaufnahme kann während dieser Phase der Glucosebedarf nicht durch die Glucoseproduktion aus Propionat, dem Haupt-Precursor der Glucosesynthese des Wiederkäuers

(LEAN et al. 1992; SEAL und REYNOLDS 1993; DRACKLEY et al. 2001; GEELEN und WENSING 2006), abgedeckt werden (DRACKLEY et al. 2005). Nach DRACKLEY et al. (2001) werden in den ersten Wochen nach dem Partus ca. 500 g/d weniger Glucose aus Propionat gebildet als tatsächlich benötigt werden. Da die Milchkuh jedoch auf eine kontinuierliche Gluconeogenese und eine gleichzeitig ablaufende Glucosemetabolisierung angewiesen ist (STANGASSINGER 1985; DRACKLEY 2002), muss das fehlende Propionat durch die verstärkte Nutzung anderer Glucoseprecursoren ausgeglichen werden. Dabei kommt es zu einer Veränderung der Anteile, mit denen die einzelnen Precursoren zur Gluconeogenese beitragen. Während in der ersten Woche p.p. die Glucoseneusynthese aus Propionat stark vermindert ist, steigt der Anteil, den Lactat sowie glucogene Aminosäuren und dabei insbesondere Alanin zur Gluconeogenese beitragen, an (REYNOLDS et al. 2003; DOEPEL et al. 2009).

Der Energiemangel löst, endokrin vermittelt, homöorhetische Adaptationsprozesse (BAUMAN und CURRIE 1980; STAPLES et al. 1990) aus, die zur Kompensation des energetischen Defizits eine Mobilisation körpereigener Energiereserven ermöglichen. Die mobilisierbaren Energiereserven sind Körperfett und -protein sowie Glykogen (PETRY 2000). Eine spezifische Konstellation stoffwechselmodulierender Hormone forciert die Lipolyse in den Fettgeweben, die Proteolyse in den Muskelgeweben sowie die Glykogenolyse in der Leber (LUCY et al. 1991). Gleichzeitig stimuliert die peripartale Hormonkonstellation die Gluconeogenese (LUCY et al. 1991; RICHARDS 2004) und inhibiert die Lipogenese (HERDT 2000). Die auffälligsten homöorhetischen Veränderungen der Hormonkonzentration im geburtsnahen Zeitraum sind der Anstieg der Konzentrationen von Somatotropin (STH), Prolactin, Glucocorticoiden und Katecholaminen sowie die Abnahme der Konzentrationen von Insulin, IGF-1, Thyreoidhormonen und Leptin (ROSSOW 2003a). Zur Kompensation des Energiedefizits werden vor allem freie Fettsäuren, die bei der Mobilisation von Körperfettdepots freigesetzt werden, herangezogen (BLOCK et al. 2001; DRACKLEY et al. 2001; KOKKONEN et al. 2005).

Für die verstärkte Lipolyse in den Fettgeweben wird das zugunsten des Wachstumshormons verschobene Verhältnis von Wachstumshormon zu Insulin (DRACKLEY 2002, 2004; INGVARTSEN 2006) sowie das zugunsten des Glucagons verschobene Insulin/Glucagon-Verhältnis (BLUM 2004, ULBRICH et al. 2004) verantwortlich gemacht. Neben der Mobilisation von Körperreserven ermöglichen die hormonellen Umstellungen auch eine hohe Syntheseleistung in der Milchdrüse (ROSSOW 2003a). Das Insulin, Haupthormon der Stoffwechselregulation in den Fettgeweben, steuert den Glucosetransport, stimuliert die Lipogenese und inhibiert die Lipolyse (VERNON 2002). Es nimmt bei der Verteilung und Verwertung von Nährstoffen eine zentrale Position ein (WEEKES 1991; McGUIRE et al. 1995a; LEMOSQUET et al. 1997). Die Hauptfunktion, welche das Insulin bei der Regulation der Glucosehomöostase einnimmt, ist in der Stimulation der peripheren Glucoseaufnahme, bei gleichzeitiger Hemmung der Glucoseausschüttung durch die Leber, zu sehen (GRAF 1984; VOIGT 1996).

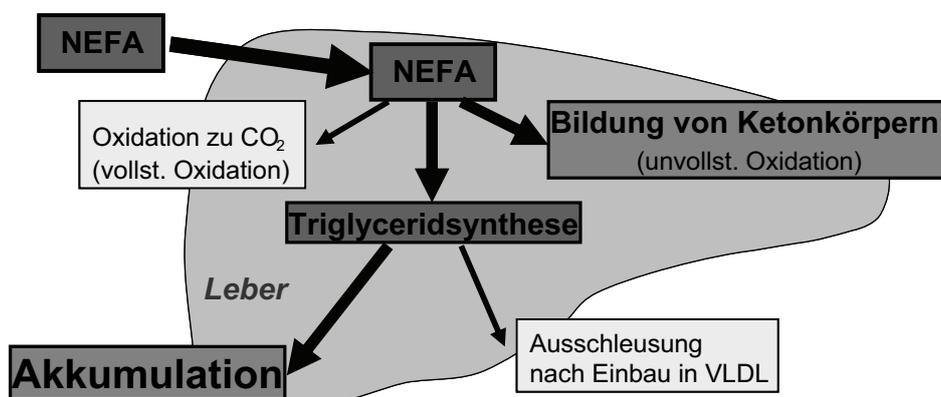
Der starke Abfall der Insulinkonzentration um den Partus (VERNON 2002; HOLTENIUS et al. 2003) sowie die während der Frühlaktation auftretende, verminderte Insulinantwort (Insulinresistenz) in den verschiedenen Zielgeweben (BELL 1995a; BAUMAN 2000) ermöglichen eine prioritäre Umverteilung (Partitioning) der Energie und Nährstoffe im Organismus zugunsten der Milchdrüse (STAUFENBIEL et al. 1992d).

Die Tatsache, dass während der Frühlaktation zwischen 50 kg und 60 kg Körperfett mobilisiert werden können (SMITH und McNAMARA 1990), kennzeichnet das Fettgewebe als quantitativ wichtigstes Energiespeichersystem der Milchkuh (PEDRON et al. 1993).

Die Nutzung von Körperfett- und Körperproteinreserven stellt in der Natur eine physiologische Strategie dar, die zur Erhöhung der Stoffwechselleistung dient (ROSSOW 2003a). Insbesondere bei Hochleistungskühen wird häufig die Stoffwechselkapazität der Leber durch die infolge der massiven Körperfettmobilisation anflutenden freien Fettsäuren überfordert (GERLOFF et al. 1986; JOHANNSEN et al. 1991,1992). Durch die exzessive Mobilisation von Körperfett können Imbalancen im hepatischen Kohlenhydrat- und

Lipidmetabolismus auftreten, die in einer vermehrten Ketonkörperbildung sowie einem Anstieg des Leberfettgehaltes münden (GRUMMER 1993; GOFF und HORST 1997; NIELSEN und INGVARTSEN 2004). Nach VERNON (2002) kann es im peripartalen Zeitraum insbesondere zu „Entgleisungen“ im Lipidstoffwechsel kommen. Infolge der verstärkten Lipolyse in den Fettgeweben erhöht sich die Konzentration der mit dem Blutstrom zirkulierenden freien Fettsäuren (GOFF und HORST 1997; SALLMANN und FUHRMANN 2000). Freie bzw. nichtveresterte Fettsäuren (NEFA - non esterified fatty acids) dienen in verschiedenen Körpergeweben und dabei insbesondere in den Hepatozyten zur Energiegewinnung und werden im Eutergewebe zur Milchfettbildung verwendet.

In der Leber, dem zentralen Stoffwechselorgan des Lipid- und Energiestoffwechsels (RICHARDS 2004), erfolgt die Aufnahme nichtveresterter Fettsäuren konzentrationsabhängig (HEITMANN et al. 1987; EMERY et al. 1992; ROSSOW 2003b). Anflutende Fettsäuren können, je nach Stoffwechsellage, vollständig über den Citratzyklus zu  $\text{CO}_2$  oxidiert, zur Ketogenese genutzt, zu Triglyceriden reesteriert und nach Einbau in VLDL (very low density lipoprotein) aus der Leber wieder in die Blutbahn abgegeben bzw. in den Hepatozyten akkumuliert werden (DRACKLEY 1999; ROSSOW 2003a; NAFIKOV et al. 2006). Die Abbildung 3 zeigt einen Überblick des Stoffwechsels der freien Fettsäuren in der Leber zu Beginn der Laktation:



**Abb. 3:** Stoffwechsel freier Fettsäuren in den Hepatozyten zu Laktationsbeginn; mod. nach ROSSOW (2003a)

Die im Cytosol der Hepatozyten anflutenden Fettsäuren werden durch eine Thiokinase in ihre aktivierte Form, das Acyl-CoA, überführt. Da Acyl-CoA die mitochondriale Innenmembran nicht passieren kann, wird es, katalysiert durch das Enzym Carnitin-Palmitoyl-Transferase-1 (CPT-1), mittels eines „Carnitin-Shuttle-Systems“ durch die Membran in das Lumen des Mitochondriums transportiert. Im Mitochondrium wird Acyl-CoA mittels  $\beta$ -Oxidation in Acetyl-CoA (C2-Bruchstücke) gespalten. Acetyl-CoA wird durch Kondensation mit Oxalacetat als Citrat in den Citratzyklus eingeschleust (BAIRD 1982, LOMAX 1992). Über den Citratzyklus und die Atmungskette können die C2-Bruchstücke so zur Energiegewinnung vollständig zu  $\text{CO}_2$  oxidiert werden.

Bei maximaler Belastung des Energiestoffwechsels, insbesondere während der Frühaktation, wird dem Intermediärstoffwechsel vermehrt Glucose für die mamäre Laktosesynthese entzogen. Die entstandene Hypoglykämie wird durch eine verstärkte Gluconeogenese und Glykogenolyse kompensiert. Das Oxalacetat, zentrales Bindeglied zwischen Kohlenhydrat- und Lipidmetabolismus, wird nun vermehrt zur Gluconeogenese genutzt, um den hepatischen Glucoseoutput zu erhöhen (WEEKES 1991). Die Folge ist, dass weniger Oxalacetat als Reaktionspartner zur Verfügung steht, wodurch das aus der mitochondrialen  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren stammende Acetyl-CoA in immer geringerer Menge in den Citratzyklus eingeschleust werden kann (RUKKWAMSUK et al. 1999a,b) und somit im alternativen Stoffwechselweg der Ketogenese zu Ketonkörpern (Aceton, Acetoacetat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat) metabolisiert wird (DOBBELAAR et al. 1996). Damit stellt das Oxalacetat einen wesentlichen Regulator in der Verbindung von Gluconeogenese und Ketogenese dar (KREBS 1966; BAIRD 1982).

Durch den infolge der energetischen Unterversorgung auftretenden Kohlenhydratmangel in der Leber kann die Ketonkörperproduktion derart ansteigen, dass sich eine subklinische bis klinisch manifeste Ketose entwickelt (DUFFIELD 2000; HERDT 2000; DRACKLEY et al. 2001).

Freie Fettsäuren, welche die Mitochondrienmembran nicht passieren können, werden im Cytosol der Hepatozyten an den Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums zu Triglyceriden reverestert (LOMAX 1992). Die Kapazität des Lebergewebes, freie Fettsäuren zu Triglyceriden zu verestern, steigt im peripartalen Zeitraum deutlich an (GRUM et al. 1996; LITHERLAND et al. 2003; ROSSOW 2003a). Die hepatische Fettsäureaufnahme sowie die Veresterung und Akkumulation von Triglyceriden in der Leber verhalten sich proportional zur NEFA-Konzentration im Blut (BERTICS et al. 1992; GRUMMER 1993; GRUM et al. 1996; GRUMMER et al. 2000). GRUMMER (1993) vermutet, dass neben der hohen peripartalen Serumkonzentration freier Fettsäuren insbesondere der Anstieg der Serumkonzentration an plazentalem Östradiol zum Partus, in Verbindung mit der absinkenden Progesteronkonzentration, für die Forcierung der Triglyceridsynthese und -akkumulation verantwortlich ist.

Reveresterte Triglyceride werden akkumuliert oder in den Vesikeln des Golgiapparates an very low density lipoproteine (VLDL) gebunden und über interzelluläre Membransysteme an das Blut abgegeben (SPARKS und SPARKS 1985). Die akkumulierte Triglyceridmenge ist entscheidend vom Gleichgewicht zwischen der Anflutung freier Fettsäuren und der hepatischen Lipoproteinsynthesekapazität abhängig (ROSSOW und STAUFENBIEL 1983). Der Leberfettgehalt nimmt zu, wenn die hepatische Triglyceridsyntheserate die Triglyceridhydrolyserate zuzüglich der Triglyceridexportrate als VLDL überschreitet (GERLOFF et al. 1986; PULLEN et al. 1990). Da der Ausschleusemechanismus in Form von VLDL beim Wiederkäuer im Vergleich zum Monogastrier stark limitiert ist (KLEPPE et al. 1988; PULLEN et al. 1990), werden die reveresterten Triglyceride größtenteils akkumuliert, was einen Anstieg des Leberfettgehaltes zur Folge hat (RUKKWAMSUK et al. 1999a,b).

Eine exzessive hepatische Lipidakkumulation während der Frühlaktation stellt bei Milchkühen mit hoher Milchleistung eine der bedeutsamsten metabolischen Störungen im peripartalen Zeitraum dar (GOFF und HORST 1997; DRACKLEY 1999; JORRITSMa et al. 2001; GEELEN und WENSING 2006). Massive Fetteinlagerungen in den Hepatozyten gehen mit hepatischen

Funktionsstörungen einher (GRUMMER 1993; VAN DEN TOP et al. 1996; DRACKLEY 1999) und können zu Beeinträchtigungen der Tiergesundheit sowie des produktiven und reproduktiven Leistungsvermögens führen (WENSING et al. 1997).

Der eigentliche Anstieg des Fettgehaltes in der Leber ist ein Resultat der exzessiven Überschwemmung der Leber mit freien Fettsäuren, welche infolge der verstärkten Lipolyse in den Fettgeweben freigesetzt werden (HERDT 1988a; GRUMMER 1993; RUKKWAMSUK et al. 1998; RUKKWAMSUK et al. 2000; BOBE et al. 2004). RUKKWAMSUK (1999) führte aus, dass die Entwicklung einer Fettleber bei Milchkühen in der Früh lactation auf die erhöhte NEFA- Aufnahme durch die Leber sowie eine zunehmende Triglyceridsynthese in den Hepatozyten verbunden mit der Unfähigkeit zur Steigerung der VLDL-Synthese zurückzuführen sei.

In der verstärkten postpartalen Lipidakummulation kommt die Insuffizienz der Leberzellen zum Ausdruck, die enorme Menge freier Fettsäuren in ausreichendem Maße entweder vollständig über den Citratzyklus und die Atmungskette oder unvollständig über die Ketogenese zu oxidieren bzw. diese gebunden an Transportlipoproteine aus der Leber auszuschleusen. Der Leberfettgehalt steigt als Folge der Überlastung der alternativen Stoffwechselwege (BEEVER 2006) in der Leber, was den Leberfettgehalt als einen Indikator der peripartalen metabolischen Belastung kennzeichnet. Das energetische Defizit, die massive Mobilisation von Körperfett, die verstärkte Ketogenese sowie die vermehrte Triglyceridakkumulation in den Leberzellen sind eng mit metabolischen Störungen und einer höheren Inzidenz postpartaler Erkrankungen verbunden (HERDT 2000; JORRITSMA et al. 2003b; BOBE et al. 2004).

## **2.2.2 Zootechnische Parameter**

### **2.2.2.1 Trockensubstanzaufnahme**

Die letzten 3 Trächtigkeitswochen sind durch einen kontinuierlichen Rückgang der Trockensubstanzaufnahme gekennzeichnet (GRUMMER et al. 2004). Für diesen Rückgang werden die zum Partus ansteigende Östradiolkonzentration

bei gleichzeitig stark abfallender Progesteronkonzentration, die beginnende Mobilisation von Körperfett, aber auch das durch den wachsenden Fötus eingeschränkte Pansenvolumen verantwortlich gemacht (INGVARTSEN et al. 1999; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000). Der Rückgang der Trockensubstanzaufnahme während der letzten 21 Tage vor dem Partus wird von verschiedenen Autoren in einem Bereich von 10 - 35 % angegeben, wobei die größte Abnahme in der letzten Trächtigkeitswoche festzustellen ist (BERTICS et al. 1992; HAYIRLI et al. 2003; DRACKLEY 2004; FRENCH 2006). In der letzten Woche vor dem Partus kann der Rückgang der Trockensubstanzaufnahme zwischen 10 % und 50 % betragen (THILSTED 1985; GERLOFF 2000; DRACKLEY 2002). INGVARTSEN et al. (1997) zeigten, dass der Rückgang der Trockensubstanzaufnahme schon vor der Transitperiode einsetzen kann. Unmittelbar zur Kalbung erreicht die Trockensubstanzaufnahme ihren geringsten Wert (INGVARTSEN und ANDERSEN 2000). Nach dem Partus steigt die Futteraufnahme kontinuierlich an und erreicht bei den meisten Tieren zwischen der 8. und 11. Woche p.p. ihr Maximum (STAUFENBIEL 1989; LUCY et al. 1991; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b), wobei Anstieg und Höhe individuell stark variieren können. Nach Angaben von INGVARTSEN und ANDERSEN (2000) kann sich das Erreichen der maximalen Trockensubstanzaufnahme jedoch bei einigen Tieren bis zur 22. Woche p.p. verzögern. Unmittelbar nach der Geburt treten die größten Unterschiede bei der interindividuellen Trockensubstanzaufnahme auf. So liegt der Variationskoeffizient für die tägliche Trockensubstanzaufnahme in der ersten Woche p.p. bei 30 - 40 %, nach dem Laktationspeak nur noch bei 6 - 10 % (DRACKLEY 1999).

#### **2.2.2.2 Energiebedarf**

Mit der Annäherung an den Partus ist bei Milchkühen ein starker Anstieg des Energiebedarfs zu beobachten, welcher sich nach BELL (1995b) damit begründen lässt, dass der Energieverbrauch für die Versorgung des Uterus und das Wachstum des Konzeptus zum Ende der Gravidität exponentiell zunimmt. VANDEHAAR et al. (1999) gaben den Anstieg des energetischen Bedarfs im

letzten Trächtigkeitsmonat mit insgesamt 23 % an. War der Energiestoffwechsel einer ausgewachsenen Milchkuh vor dem Partus noch auf die Abdeckung ihres Erhaltungsbedarfs zuzüglich des Bedarfes für das Wachstum des Konzeptus ausgerichtet, muss unmittelbar p.p. neben dem Erhaltungsbedarf, infolge der einsetzenden Laktation, auch ein sprunghafter Anstieg des Energiebedarfs der Milchdrüse (BUTLER und SMITH 1989; DOMECCQ et al. 1997b; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006) energetisch kompensiert werden. DRACKLEY et al. (2005) beobachteten bei einer multiparen Milchkuh mit einer Körpermasse von 725 kg eine Verdoppelung des täglichen Gesamtenergiebedarfs zwischen dem 2. Tag a.p. und dem 2. Tag p.p..

Zusätzlich zum steigenden Energieaufwand für die Milchsekretion wird der Energiestoffwechsel in der Früh-laktation durch den ansteigenden energetischen Bedarf für Fruchtbarkeitsfunktionen, wie die Uterusregeneration in der Puerperalphase sowie die Wiederaufnahme der zyklischen Ovarfunktionen beansprucht (BUTLER und SMITH 1989; VILLA-GODOY et al. 1988; STAUFENBIEL et al. 1991).

### **2.2.2.3 Milchleistung**

Mit dem Partus setzt in der Milchdrüse die Synthese und Sekretion der Milch ein. Milch besteht zu 87 % aus Wasser, 4,8 - 5,0 % Laktose, 3,5 - 4,5 % Fett, 3,0 - 4,0 % Eiweiß und ca. 1 % Mineralsalzen (EICHER et al. 2005).

Die Früh-laktation ist durch den sprunghaften Anstieg der täglichen Milchmengenleistung geprägt. Sowohl der größte Leistungsanstieg als auch die höchste Tagesmilchleistung fallen in diesen Zeitraum. HUTH (1995) definierte die 1. - 2. Woche p.p. als „Steilen Leistungsanstieg“ und die 3. - 11. Woche p.p. als „Oberen Leistungsbogen“ der Laktationskurve. Zwischen der 6. und 8. Woche p.p. wird die Peakleistung erreicht. In diesem Zeitraum können Hochleistungskühe Tagesmilchleistungen oberhalb von 50 kg erbringen. Nach Überschreiten der Peakleistung fällt die tägliche Milchleistung wieder ab. Die Höhe der Peakleistung sowie der Zeitraum bis zum Rückgang der Leistung auf das Niveau der 2. Laktationswoche beeinflussen Leistungsniveau und Persistenz der Laktation (HUTH 1995).

Mit dem Übergang der Kolostralmilch in eine reife, verkehrsfähige Milch verändert sich neben dem Anstieg der absoluten Milchmenge auch der Anteil der einzelnen Milchinhaltsstoffe. Während Fett- und Eiweißgehalt abnehmen, steigt der Laktosegehalt an. Nach DE KRUIF et al. (1998) korrelieren Milchmenge und -fettgehalt während der Frühaktation negativ. Mit dem Anstieg der Milchmenge sinkt der Milchfettgehalt bis zum 60. - 80. Tag p.p. ab (DE KRUIF et al. 1998). Auch der Eiweißgehalt der Milch sinkt von einer hohen Konzentration zu Laktationsbeginn (ROSSOW 2004) bis zum 3. Laktationsmonat ab (DE KRUIF et al. 1998). Nach einem Anstieg der Konzentration (von 3,0 % auf ca. 5,0 %) in der Frühaktation bleibt die Laktosekonzentration in der Laktation auf einem relativ konstanten Niveau (LEYDOLPH und ULRICH 1952; KÖRNER et al. 1977; GEBHARDT 1993; GRABOWSKI 2000). Die Milch leistungsgerecht versorgter Milchkühe weist im Durchschnitt einen Fettgehalt von 3,5 - 4,5 % und einen Eiweißgehalt oberhalb 3,2 % auf (ROSSOW et al. 1990). FÜRLL (2005) gibt den durchschnittlichen Milchfettgehalt mit 3,5 - 4,5 %, den durchschnittlichen Milcheiweißgehalt mit 3,2 - 3,8 % und den durchschnittlichen Laktosegehalt mit 4,6 - 5,0 % an. Durch die Züchtung auf hohe Milchleistung produzieren Milchkühe aktuell eine zehnfach höhere Milchmenge als zur Versorgung eines Kalbes benötigt würde (GRUMMER et al. 2004).

#### **2.2.2.4 Energiebilanz**

Unter der Energiebilanz versteht man die auf der Netto Energie Laktation (NEL) basierende Differenz zwischen aufgenommener Energie und der Summe des Energiebedarfs für Wachstum, Erhaltung, Gravidität und Milchleistung (STAUFENBIEL et al. 1989a; LUCY et al. 1991).

Im peripartalen Zeitraum durchlaufen mindestens 80 % (VILLA-GODOY et al. 1988; DOMECCQ et al. 1997b) und bis zu 92 % (COPPOCK et al. 1974) aller Milchkühe mit hoher Milchleistung eine Phase negativer Energiebilanz; eine Situation, bei der der Energiebedarf der Tiere nicht durch die aufgenommene Energiemenge abgedeckt wird. Im Vergleich der Faktoren beeinflusst die Energieaufnahme und damit die Trockensubstanzaufnahme den Bilanzwert am

stärksten (McNAMARA 1991). Während der Früh lactation wird die tägliche Energiebilanz stärker durch die Trockensubstanzaufnahme als durch die Milchleistung bestimmt (VILLA-GODOY et al. 1988; SPICER et al. 1990; LUCY et al. 1991; NEBEL und McGILLARD 1993). Nach BUTLER et al. (1981) gerät jede Hochleistungskuh in eine Phase mit negativer Energiebilanz, wobei deren Dauer und Stärke individuell stark variieren kann.

Die Dauer der Phase mit negativer Energiebilanz wird im Durchschnitt mit 8 Wochen (BOISCLAIR et al. 1986; BERGHORN et al. 1988; STAPLES et al. 1990; DOMECCQ et al. 1997a) angegeben, kann jedoch zwischen 5 Wochen (BUTLER und SMITH 1989) und 16 Wochen (BUTLER und ELROD 1992) variieren. Sie beginnt bereits vor dem Partus und erreicht ihr Maximum in der 1. Woche p.p. (GRUMMER 1995). Im Regelfall ist die Energiebilanz bei Hochleistungskühen zwischen der 10. und 16. Woche p.p. wieder ausgeglichen (BEAM und BUTLER 1999; ROSSOW und JÄKEL 2004). Der Zeitpunkt der Bilanzumkehr hängt von der Kondition zum Partus ab und verlagert sich mit zunehmender Konditionsnote auf einen späteren Zeitpunkt (PEDRON et al. 1993). Leistungsstarke Tiere benötigen dazu mehr Zeit als leistungsschwache. Auch bei Tieren mit geringerer Trockensubstanzaufnahme dauert dies länger (FERGUSON 1991; BUTLER 2000; ROSSOW und JÄKEL 2004).

Nach GARNSWORTHY und TOPPS (1982) wird das Ausmaß der negativen Energiebilanz von der Körperkondition zum Partus, der Schwere der Futteraufnahme-depression sowie der Qualität der eingesetzten Futtermittel bestimmt. Darüber hinaus erhöht sich das energetische Defizit mit der Zunahme der genetisch determinierten Leistungsveranlagung (ROSSOW und STAUFENBIEL 1983; WESTWOOD et al. 2000, 2002).

Während der Trockenstehperiode angelegte exzessive Körperfettreserven gehen mit einem verminderten Futteraufnahmevermögen in der Früh lactation einher (GRUMMER 1995; HAYIRLI et al. 2002) und verstärken so das energetische Defizit in der Früh lactation (RUKKWAMSUK et al. 1999a). Nach GEELEN und WENSING (2006) wird das Ausmaß der negativen Energiebilanz einer Hochleistungskuh entscheidend dadurch bestimmt, inwieweit das Tier

individuell befähigt ist, auf die genetisch verankerte Milchleistungserhöhung mit einer adäquaten Futteraufnahme zu reagieren.

Die Höhe des energetischen Defizits kann bis zu 63 MJ NEL/Tag betragen (LUCY et al. 1991). In einzelnen Fällen wurden jedoch auch Werte von bis zu 115 MJ NEL/Tag ermittelt (BERGMANN et al. 1999). Eine negative Energiebilanz bedeutet jedoch nicht, dass auch eine klinische Erkrankung der Milchkuh vorliegen muss. Auch klinisch gesunde Kühe geraten in eine Phase mit negativer Energiebilanz. So ermittelte BELL (1995b) bei klinisch gesunden Milchkühen während der Früh lactation einen Energiebedarf, der um 26 % über der tatsächlichen Energieaufnahme der Tiere lag.

#### **2.2.2.5 Rückenfettdicke**

Mit Hilfe der ultrasonographischen Messung der Rückenfettdicke, einer Methode zur Konditionsbeurteilung beim Milchrind (STAUFENBIEL 1992, 1997), lässt sich die subkutane Fettauflage (Depotfett) einer Milchkuh quantifizieren. Diese, an einem definierten Messpunkt (STAUFENBIEL 1992; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006) gemessene Fetteinlagerung in der Unterhaut spiegelt die Fettreserve des gesamten Körpers wider (GREGORY et al. 1998; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006). Zwischen der Rückenfettdicke an diesem Messpunkt im Rückenbereich des Rindes und dem Gesamtkörperfettgehalt besteht eine signifikante, positive Korrelation im Bereich von  $r = 0,8 - 0,9$  (WIEDEMANN 1989; STAUFENBIEL 1992; KLAUWUHN 1992; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006).

Das Fettgewebe ist der quantitativ bedeutsamste Energiespeicher zum Ausgleich des postpartalen Energiedefizits (PEDRON et al. 1993). Die deponierte Menge Körperfett ist ein Indikator des Energiestatus (WALTNER et al. 1993) und liefert wertvolle Informationen über die Stoffwechsellage der Milchkuh (STAUFENBIEL et al. 1991). In seiner Funktion als schnell mobilisierbarer Energiespeicher übt das Fettgewebe einen positiven Einfluss auf Leistung und Gesundheit aus (STAUFENBIEL et al. 1989b), ist aber auch als ein pathogener Faktor an der Entstehung von Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstörungen beteiligt (STAUFENBIEL et al. 1991). So gelten gut

ausgebildete Fettdepots einerseits als leistungsfördernd (STAUFENBIEL et al. 1992a; PEDRON et al. 1993; STAUFENBIEL et al. 1993b; WALTNER et al. 1993; MARKUSFELD et al. 1997; DOMECCQ et al. 1997b), während eine Überkonditionierung zu Leistungsdepressionen und erhöhter Prädisposition für Krankheiten führt (STAUFENBIEL et al. 1987; GEARHART et al. 1990; WALTNER et al. 1993).

Eine Milchkuh durchläuft von einem Laktationszyklus zum nächsten einen dynamischen Auf- und Abbau ihrer Fettreserven, wobei der Umfang dieses Auf- bzw. Abbaus durch die Energiebilanz bestimmt wird. Eine Zunahme der Rückenfettdicke bei wiederholter Messung spiegelt die Lipogeneserate, eine Abnahme der Rückenfettdicke die Lipolyserate in einem Untersuchungszeitraum wider (STAUFENBIEL 1992). Dieser sich von Laktation zu Laktation wiederholende Wechsel zwischen Mobilisation und Deposition wird als Lebendmasse-Energie-Zyklus der Milchkuh bezeichnet (STAUFENBIEL 1993). Die Änderung der Rückenfettdicke um 1 mm entspricht einer Zu- bzw. Abnahme des Körperfettgehaltes um ca. 0,75 % und damit 5 kg des Körperfettes bzw. 200 MJ Nettoenergie (STAUFENBIEL et al. 1993a).

Zum Zeitpunkt des Trockenstellens, ca. 8 Wochen vor dem Partus, sollten Milchkühe über eine Rückenfettdicke im Bereich zwischen 20 mm und 25 mm (STAUFENBIEL 1993) bzw. zwischen 19 mm und 27 mm (SCHRÖDER 2000) verfügen und diese bis zum Partus möglichst beibehalten (WILDMAN et al. 1982; EDMONSON et al. 1989; GEARHART et al. 1990; STAUFENBIEL et al. 1991). Der Aufbau von Körpermasse sollte zu diesem Zeitpunkt weitestgehend abgeschlossen sein (GEARHART et al. 1990). Ein Abbau von Körperfett während der Trockenstehphase infolge nicht bedarfsgerechter Energieversorgung hat nach STAUFENBIEL et al. (1991, 1993a) negative Auswirkungen auf die Tiergesundheit und führt zu einem signifikanten Anstieg des Leberfettgehaltes. Dies bestätigen auch die Ergebnisse von GRUMMER (1993). Eine zu energierestrictive Fütterung in der Trockenstehphase induziert nach Auffassung des Autors bereits vor dem Partus eine Mobilisation von Körperfett, infolgedessen sich die Plasmakonzentration freier Fettsäuren und nachfolgend der Leberfettgehalt und die Ketonkörperkonzentration im

Blutplasma erhöhen. Umgekehrt beeinträchtigen während der Trockenstehperiode angelegte Fettdepots das Futteraufnahmevermögen in der Früh-laktation, verschärfen das energetische Defizit und prädisponieren die Milchkuh für Krankheiten (FRONK et al. 1980; MARKUSFELD 1985; CORREA et al. 1990; DOMEQ et al. 1997b; RUKKWAMSUK et al. 1999a). Milchkuhe, die zum Partus stärker konditioniert sind, mobilisieren im gleichen Zeitabschnitt der Früh-laktation mehr Körperfett als Tiere mit geringerer Kondition (GARNSWORTHY 2007). Sowohl eine Überkonditionierung zum Zeitpunkt des Trockenstellens als auch stärkere Zu- bzw. Abnahmen der Körperkondition während der Trockenperiode gehen mit Milchleistungsdepressionen einher (DOMEQ et al. 1997b). Analog zur Trockenstehperiode haben sowohl zu geringe als auch übermäßig angelegte Fettdepots zum Partus einen negativen Einfluss auf Milchleistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit der Milchkuh (STAUFENBIEL et al. 1993b; STAUFENBIEL 1999; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Der Bereich der optimalen Rückenfettdicke zum Partus stellt somit einen Kompromiss zwischen den positiven und negativen Auswirkungen deponierten Fettgewebes auf den Stoffwechsel dar und liegt zwischen 20 mm und 30 mm (STAUFENBIEL 1997; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Nach Ansicht der Autoren nehmen bei einer Kalbekondition unterhalb 20 mm die negativen Effekte des nur unzureichend kompensierten Energiedefizits auf Milchleistung und Fruchtbarkeit deutlich zu, während bei Rückenfettdicken oberhalb 30 mm eine gesteigerte Mobilisierungsrate von Körperfett in der Früh-laktation eine erhöhte Inzidenz von Stoffwechselerkrankungen zur Folge hat.

Während der Früh-laktation führt das energetische Defizit, welches aus dem enorm ansteigenden Energiebedarf und dem gleichzeitig nur ungenügend ansteigenden Trockensubstanzaufnahmevermögen resultiert, zu einer homöorhetisch induzierten, verstärkten Lipolyse in den Fettgeweben und damit zu einer massiven Abnahme der Rückenfettdicke. Milchkuhe können zu Laktationsbeginn täglich bis zu 2 kg Körperfett mobilisieren, der Gesamtkörperfettabbau kann dabei bis zu 150 kg betragen. ROSSOW et al. (1989) und STAUFENBIEL (1993) betrachten eine Rückenfettdickenabnahme

von bis zu 3 mm während der ersten beiden Laktationswochen, was einer Mobilisation von ca. 1 kg Körperfett pro Tag entspricht, als physiologisch. Abhängig von ihrer Ausgangskondition zum Partus dürfen Milchkühe während der ersten 8 Laktationswochen bis zu 15 mm Rückenfettdicke abbauen, sollten dabei aber nicht unter einen Rückenfettdickenwert von 15 mm abfallen, da sonst die Inzidenz für Fruchtbarkeitsprobleme zunimmt und insbesondere schlechtere Konzeptionsergebnisse zu erwarten wären (STAUFENBIEL 1993). Bei Milchkühen der Rasse Holstein-Friesian wird in der Früh-laktation ein Körpermasseverlust von 50 kg als physiologisch angesehen (STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Wichtiger als die absolute Menge ist die Abbaugeschwindigkeit der Körpermasse. Je langsamer der Abbau vonstatten geht, desto geringer sind die Risiken für Gesundheit und Fruchtbarkeit. Bis zu welchem Zeitpunkt in der Früh-laktation Körperfett zum Ausgleich des energetischen Defizits mobilisiert werden muss, ist von der individuellen Energiebilanz abhängig. Der konditionelle Tiefpunkt wird erreicht, wenn die Energiebilanz wieder ausgeglichen ist bzw. sich umkehrt. Ab diesem Zeitpunkt wird erneut Körpermasse aufgebaut und dabei insbesondere Körperfett deponiert, um die verbrauchten Energiereserven zu regenerieren, damit diese zu Beginn der neuen Laktation wieder zur Verfügung stehen.

Der exakte Zeitpunkt des Konditionstiefpunktes ist vom Leistungsniveau (SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2002), der Kondition zum Partus (PEDRON et al. 1993), der Laktationsnummer (SCHRÖDER 2000) sowie dem Trockensubstanzaufnahmevermögen (FERGUSON 1991; BUTLER 2000; ROSSOW und JÄKEL 2004) der Tiere abhängig. Mit höherem Leistungsniveau, stärkerer Kondition zum Partus, steigender Laktationsnummer sowie niedrigerer Trockensubstanzaufnahme verschiebt sich der konditionelle Tiefpunkt auf einen späteren Zeitpunkt in der Laktation.

## **2.2.3 Stoffwechselmetabolite**

### **2.2.3.1 Freie Fettsäuren**

Nichtveresterte bzw. freie Fettsäuren (NEFA - non esterified fatty acids) sind ein Spaltungsprodukt, das neben Glycerin bei der Lipolyse (hydrolytische Spaltung,

v.a. von Triglyceriden) freigesetzt wird (INGVARTSEN 2006). Es handelt sich dabei um unveresterte Monocarbonsäuren mit 10 oder mehr Kohlenstoffatomen (FÜRLL 1989). Die Konzentration der im Blut transportierten freien Fettsäuren ist negativ mit der Energiebilanz korreliert (PULLEN et al. 1989; REIST et al. 2000; REIST et al. 2002; BUSATO et al. 2002), steigt mit Zunahme der Lipolyse an (SALLMANN und FUHRMANN 2000) und gilt als Anzeiger der Fettmobilisation (PULLEN et al. 1989; CHIESA et al. 1991; GOFF und HORST 1997). Die enge Korrelation zwischen der NEFA-Konzentration und dem Grad der Fettmobilisation kennzeichnen die zirkulierenden freien Fettsäuren als Indikator des Energiestoffwechsels (BOWDEN 1971; BLUM und KUNZ 1980). Das um den Partus und während der Frühaktation auftretende Energiedefizit führt zu einer kompensatorischen Reaktion, der Homöorhese (STAPLES et al. 1990), bei der einerseits durch eine niedrige Plasma-Insulinkonzentration eine Hemmung der Lipolyse vermieden wird und andererseits durch die verstärkte Sezernierung lipolytisch wirkender Hormone (Katecholamine, Glucagon und Wachstumshormone) die Lipolyse in den Fettgeweben forciert wird. Nach der Abgabe der freien Fettsäuren in das Blut werden diese an Serumalbumin gebunden und mit dem Blutfluss transportiert. Sie dienen in verschiedenen Körpergeweben und dabei insbesondere in den Hepatozyten zur Energiegewinnung und werden im Eutergewebe zur Milchfettbildung verwendet. Nach DRACKLEY (2002) stellen die durch die verstärkte Lipolyse freigesetzten Fettsäuren die Hauptenergiequelle während des Energiemangels im peripartalen Zeitraum dar.

Die Mobilisation von Körperfett und damit der Anstieg der Serumkonzentration freier Fettsäuren kann bereits vor dem Partus einsetzen, erreicht ihren Gipfel während der 1. Woche p.p. und fällt dann bis zur etwa 3. Woche p.p. auf ein geringes Basalniveau zurück. Die Abbildung 4 zeigt einen für Milchkühe typischen Verlauf der Konzentration freier Fettsäuren im geburtsnahen Zeitraum. Der Referenzbereich liegt unterhalb von 620  $\mu\text{mol/l}$  (FÜRLL 2005). HART et al. 1978 fanden bei Hochleistungskühen höhere Konzentrationen freier Fettsäuren als bei Tieren mit geringerem Leistungspotential. Durch das potentiell bereits präpartal auftretende Energiedefizit kann die

Serumkonzentration freier Fettsäuren bereits 1 - 2 Wochen vor dem Partus ansteigen (STANGASSINGER et al. 1983; GRUMMER 1995). GRUMMER (1993) fand eine negative Korrelation zwischen der NEFA-Konzentration und der Trockensubstanzaufnahme. Je stärker die antepartale Futteraufnahme reduziert ist, desto intensiver werden um den Partus aus den Körperfettdepots Fettsäuren freigesetzt (CADORNIGA-VALIÑO et al. 1997; ROSSOW 2003b). INGVARTSEN und ANDERSEN (2000) vermuten, dass eine exzessive Körperfettmobilisation die Futteraufnahme hemmt. Neben dem Zusammenhang mit der Futteraufnahme scheint auch die Kondition der Tiere einen Einfluss auf die NEFA-Konzentration zu haben. Nach RUKKWAMSUK et al. (2000) zeigen überkonditionierte Kühe in der Phase der negativen Energiebilanz eine höhere Lipolyserate und damit eine höhere Konzentration freier Fettsäuren.

Ein Anstieg der Konzentration freier Fettsäuren vor dem Partus stellt einen prädisponierenden Faktor für postpartale Gesundheitsstörungen wie Ketosen, Labmagenverlagerungen, Nachgeburtsverhaltungen, Geburtsstörungen und Mastitis dar (DYK et al. 1995; ROSSOW 2003b). DUFFIELD (2004) zeigte, dass bei einer NEFA-Konzentration oberhalb 700  $\mu\text{mol/l}$  während der letzten Graviditätswoche ein bis zu fünffach höheres Risiko besteht, p.p. an einer subklinischen Ketose zu erkranken. CONNER et al. (2004) beschrieben eine erhöhte Inzidenz für Ketose und Nachgeburtsverhaltungen, VAN WINDEN et al. (2003) für Labmagenverlagerungen bei Tieren, die a.p. hohe NEFA-Konzentrationen aufwiesen.

Mit höherer Konzentration freier Fettsäuren nehmen auch Fruchtbarkeitsstörungen zu. JORRITSMA et al. (2003c) beobachteten mit Anstieg der NEFA-Konzentration eine geringere Masse des Corpus luteums sowie die Abnahme der Progesteronkonzentration. Nach OBESE et al. (2004) und SHRESTHA et al. (2004b) verstärken hohe postpartale Konzentrationen freier Fettsäuren das Risiko einer verzögerten ersten Ovulation nach dem Partus. KRUIP et al. (1999) vermuten, dass freie Fettsäuren eine toxische Wirkung auf Follikel und Oozyten haben. ZEHRUN (2002) fand bei Tieren, die im Zeitraum zwischen der 6. und 8. Woche p.p. Follikelzysten aufwiesen, signifikant erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren.

### 2.2.3.2 Betahydroxybutyrat

Betahydroxybutyrat (BHB) gehört wie Acetoacetat und Aceton zu den Ketonkörpern. Der Metabolit wird bei der Ketogenese, die hauptsächlich in den Hepatozyten stattfindet, sowie bei der Resorption und Hydroxylierung von Butyrat in der Pansenwand gebildet, wobei die Generierung durch Ketogenese quantitativ bedeutsamer ist. Bei der Ketogenese wird das aus der  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren stammende Acetyl-CoA zu Acetoacetat aufgebaut, woraus Aceton sowie, katalysiert durch das Enzym Betahydroxybutyratdehydrogenase, Betahydroxybutyrat generiert werden kann. Betahydroxybutyrat macht mit ca. 81 % den weitaus größten Anteil an der Gesamtketonkörperkonzentration beim Wiederkäuer aus (SCHLERKA und FILAR 1981).

Unter physiologischen Stoffwechselbedingungen ist die Bildung von Ketonkörpern kein pathologischer Vorgang. Es handelt sich um einen Metaboliten in wasserlöslicher, leicht transportierbarer und oxidierbarer Form, der als vergleichsweise minderwertiger Energieträger in verschiedenen Körpergeweben verstoffwechselt werden kann (RUKKWAMSUK et al. 1998; SALLMANN und FUHRMANN 2000). Ketonkörper werden insbesondere in der Muskulatur aber auch in anderen Körpergeweben als Energiequelle genutzt und haben somit eine glucosesparende Wirkung (SCHLERKA und FILAR 1981; ROSSOW 2003a). Nach der Auffassung von GASTEINER (2000) sind Ketonkörper als leicht oxidierbare Metabolite besonders während der Energiemangelsituation in den ersten 3 - 6 Woche p.p. bedeutsam für die Energieversorgung. Die Verstoffwechslung von Ketonkörpern zählt zu den adaptiven Mechanismen, die es dem Wiederkäuer ermöglichen, ein Energiedefizit bis zu einem gewissen Grad zu tolerieren, bevor sich eine Ketose entwickelt (CHILLIARD et al. 1998a). Im Gegensatz zu dem anderer Spezies ist das Gehirn des Wiederkäuers nicht in der Lage, Ketonkörper zur Energiegewinnung zu nutzen (VON ENGELHARDT und BREVES 2000). In der Milchdrüse des Wiederkäuers kann neben Acetat auch Betahydroxybutyrat zur Milchfettbildung (De-novo-Synthese freier Fettsäuren) verwendet werden (VERNON 2002).

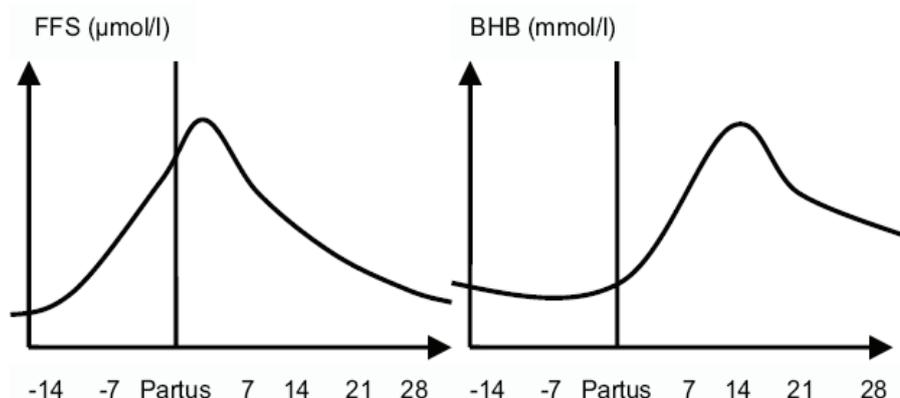
Während der Phase mit negativer Energiebilanz führt der Kohlenhydratmangel zur Forcierung der Ketogenese, was zu einer Ketose führen kann (DRACKLEY 2002). Die Ketogenese findet hauptsächlich in der Leber statt, wobei die bei der Lipolyse der Fettgewebe freigesetzten Fettsäuren als Substrat fungieren (SCHLERKA und FILAR 1981). Zur verstärkten Ketogenese kommt es bei einer Überlastung der Oxidationskapazität (GRUMMER 1993), wenn infolge eines Energiedefizits ein exzessiver Anstieg der Körperfettmobilisierung eintritt und dabei die in den Hepatozytenmitochondrien vermehrt anflutenden freien Fettsäuren zu Acetyl-CoA verstoffwechselt, aber infolge des Mangels an Oxalacetat nicht in den Citratzyklus eingeschleust und vollständig oxidiert werden können. Infolgedessen wird Acetyl-CoA zu Acetoacetat umgewandelt, welches anschließend durch die Betahydroxybutyratdehydrogenase zu Betahydroxybutyrat umgesetzt oder zu Aceton decarboxyliert wird (HERDT et al. 1981; FREITAG 1995; HOLTENIUS und HOLTENIUS 1996; CHILLIARD et al. 1998a).

Nach FÜRLL et al. (1992) ist die Ketogenese während der Phase des größten energetischen Defizits, etwa in der 4. Woche p.p. und damit etwas zeitversetzt nach der maximalen Lipolyse, am stärksten ausgeprägt. Entsprechend beobachteten TEUFEL (1999) und BUSATO et al. (2002) eine maximale Betahydroxybutyratkonzentration 1 Woche nach der maximalen Konzentration freier Fettsäuren. Auch SATO et al. (1999) beschrieben während der Frühaktation einen proportionalen Anstieg beider Metabolite. Die Abbildung 4 zeigt einen charakteristischen Verlauf der peripartalen BHB-Konzentration bei Milchkühen mit hoher Milchleistung. Die Ketonkörperkonzentration kann interindividuell stark variieren und wird von der Futteraufnahme während der Trockensteh- und Transitperiode beeinflusst (ENJALBERT et al. 2001). GRUMMER (1993) beschrieb eine negative Korrelation zwischen der Konzentration von Betahydroxybutyrat und der präpartalen Futteraufnahme. Bei Kühen, die während der Trockenperiode energetisch überversorgt wurden, können die Ketonkörperkonzentrationen schon vor dem Partus erhöht sein (FÜRLL 2000; HERDT 2000). Die Betahydroxybutyratkonzentration steigt bei der Mobilisation von Körperfett an (BUSATO et al. 2002) und ist ein Indikator für

Imbalancen im Energiestoffwechsel (FÜRLL et al. 1998; JORRITSMA et al. 2003a). Die Konzentration von Betahydroxybutyrat korreliert negativ mit der Energiebilanz (REIST et al. 2000, 2002). Erhöhte Konzentrationen in der Frühlaktation weisen auf eine unzureichende Energieversorgung über das Futter hin (FÜRLL 2004, 2005). Die BHB-Konzentration steht mit der Milchleistung in einem signifikant positiven Zusammenhang (WEHREND und BOSTEDT 2005). HART et al. (1978) fanden bei hochleistenden Kühen höhere Konzentrationen als bei niedriger leistenden.

Nach REIST et al. (2000) beeinflusst das Ausmaß der postpartalen Ketonkörperkonzentration die Zeitdauer zwischen Partus und dem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation. Je größer die maximale Ketonkörperkonzentration, desto größer ist die Menge an unvollständig oxidierten Fettsäuren und desto größer ist auch die Zeitspanne zwischen dem Partus und der ersten Ovulation (LING et al. 2004). In Verbindung mit hohen Ketonkörperkonzentrationen sind darüber hinaus häufig verminderte Milchleistungen, Gesundheitsstörungen durch erhöhte Infektionsanfälligkeit und Reproduktionsstörungen zu beobachten (DOHOO und MARTIN 1984; MARKUSFELD 1985; CORREA et al. 1990, 1993; OPSOMER et al. 2000; COOK et al. 2001).

Der Referenzbereich für die Betahydroxybutyratkonzentration liegt nach FÜRLL (2004) zwischen 0,34 mmol/l und 0,62 mmol/l. LOTTHAMMER et al. (1988) sehen einen Wert oberhalb 0,5 mmol/l als kritisch an.



**Abb. 4:** Typischer Verlauf der peripartalen NEFA- und BHB-Konzentration bei Milchkühen; nach ROSSOW (2003b)

### 2.2.3.3 Glucose

Für Milchkühe ist die Glucoseversorgung insbesondere für die Milchdrüse, in der große Mengen des Metaboliten zur Laktosesynthese verwendet werden, sowie für die Versorgung des Uterus und das Fötenwachstum von großer Bedeutung (CHAIYABUTR et al. 1998).

Nach Angaben von BELL (1995a) werden bei Milchkühen in der späten Trächtigkeitsphase 46 % der maternalen Blutglucose für die Versorgung des Fötus, bei Frischlaktierenden 85 % der Blutglucose zur Laktosesynthese in der Milchdrüse verwendet.

Nach dem Partus nimmt der Glucosebedarf von Milchkühen mit dem Einsetzen der Laktation stark zu (BICKERSTAFFE et al. 1974; BELL 1995a). OVERTON (1998) schätzte, dass der Glucoseverbrauch von täglich 1000 - 1100 g während der letzten 3 Wochen a.p. bis zum 21. Tag p.p. auf 2500 g ansteigt. Nach DRACKLEY et al. (2001) steigt der Bedarf an Glucose und metabolisierbaren Energieträgern im Zeitraum vom 21. Tag a.p. bis 21. Tag p.p. um das Zwei- bis Dreifache.

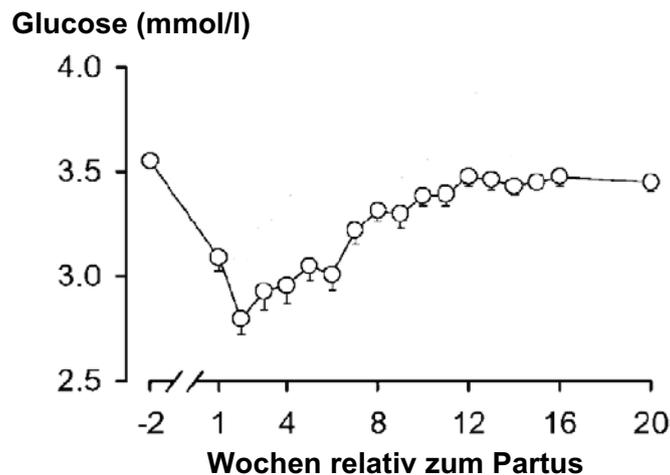
Während der Laktation gilt der Aufbau von Laktose aus Glucose als der die Milchsynthese begrenzende Schritt und damit als ein Schlüssel für hohe Milchleistungen (RIGOUT et al. 2002; ROSSOW 2003c; BLUM 2004; BROCKMAN 2005; KOMATSU et al. 2005). In der Milchdrüse wird Glucose nicht nur zur Laktosesynthese, sondern auch zur Synthese von Glycerin und Fettsäuren genutzt.

Die Blutglucosekonzentration scheint bei Milchkühen von der Laktationsnummer sowie dem Leistungsniveau beeinflusst zu werden. VON BENTEN (1972) beobachtete bei Kühen mit höherer Leistung niedrigere Plasma-Glucosekonzentrationen. WESTWOOD et al. (2000) zeigten, dass der Tiefpunkt der Glucosekonzentration in der Früh-laktation bei Tieren, die auf hohe Leistungen selektiert waren, später erreicht wurde und das niedrige Konzentrationsniveau länger anhielt als bei Tieren mit niedrigerem Leistungsniveau. KAPPEL et al. (1984) und KUME et al. (2003) beobachteten bei Kühen geringere Glucosekonzentrationen als bei Färsen.

STAUFENBIEL et al. (1992b) sehen in der Glucosekonzentration auch einen Indikator für Fertilitätsstörungen. LOTTHAMMER (1991) fand negative, korrelative Zusammenhänge zwischen der Glucosekonzentration im Serum und der Inzidenz für Fruchtbarkeitsstörungen wie Ovarialzysten und Brunstlosigkeit. Der Autor stellte bei betroffenen Tieren in allen Laktationsphasen niedrigere Glucosekonzentrationen fest, wobei diese in der 4. und 5. Woche p.p. am deutlichsten ausgeprägt waren. FORSHELL et al. (1991) und GIGER et al. (1997) fanden heraus, dass die Trächtigkeitsrate aus Erstbesamung signifikant von der Glucosekonzentration beeinflusst wird. Niedrige Konzentrationen in der 2. Woche p.p. (GIGER et al. 1997) bzw. in der 4. - 7. Woche p.p. (FORSHELL et al. 1991) verminderten die Fertilität. Nach Auffassung von BUTLER und SMITH (1989) kann die geringere Verfügbarkeit von Glucose und Insulin auch zu einem Abfall der LH-Pulsation führen und die Reaktion des Ovars auf die Gonadotropinstimulation hemmen. Im Gegensatz dazu beobachteten MANSFELD et al. (1996) bei Kühen mit Fertilitätsstörungen höhere Glucosekonzentrationen.

Der basale Glucosespiegel im Serum ist beim Wiederkäuer deutlich niedriger als beim Monogastrier (VAN SOEST 1996). Die physiologische Blutglucosekonzentration liegt bei gesunden Milchkühen im Bereich von 3,3 - 4,4 mmol/l (ROSENBERGER et al. 1990). MOORE (1997) gibt den Referenzbereich für Färsen und trockenstehende Milchkühe mit 2,77 - 4,49 mmol/l, den für laktierende, multipare Milchkühe mit 2,77 - 4,44 mmol/l an.

Die Serum-Glucosekonzentration bleibt nach KUNZ et al. (1985) und VAZQUEZ-AÑÓN et al. (1994) während der Trockenstehperiode relativ konstant, steigt zum Partus stark an, um anschließend postpartal schnell auf ein niedrigeres Niveau als vor dem Partus abzufallen. Die Abbildung 5 zeigt die mittlere Glucosekonzentration bei hochleistenden Milchkühen im peripartalen Zeitraum:



**Abb. 5:** Periparturale Glucosekonzentration von Milchkühen bei einem Konzentratfutteranteil von 30 % in der Ration (REIST et al. 2003)

## 2.2.4 Hormone

### 2.2.4.1 Insulin

Das Proteohormon Insulin wird in den  $\beta$ -Zellen der Langerhansschen Inseln des Pankreas synthetisiert. Postprandiale hohe Glucosekonzentrationen sowie die Sekretion gastrointestinaler Hormone stimulieren die Sekretion des Hormons (BINES und HART 1982; KARG 1994). Die Insulinkonzentration kann nach der Fütterung bis auf das Zehnfache der Ausgangskonzentration ansteigen (BINES und HART 1982). Beim Monogastrier ist die Glucosekonzentration der wichtigste Trigger der Insulinsekretion (LÖFFLER und PETRIDES 1997).

Eine Besonderheit beim Wiederkäuer stellt die Tatsache dar, dass im Gegensatz zum Monogastrier die Steuerung der Insulinsekretion nicht primär von der Glucosekonzentration ausgeht, sondern auch von der Serumkonzentration kurzkettiger Fettsäuren wie Propionat und Butyrat beeinflusst wird. Ein Konzentrationsanstieg dieser kurzkettigen Fettsäuren im Blut triggert die Insulinsekretion (SANO et al. 1993; FUHRMANN et al. 1989; VON ENGELHARDT und BREVES 2000).

Die Wirkungen des Insulins auf den Stoffwechsel sind sehr vielfältig. Insulin nimmt bei der Verteilung und Verwertung von Nährstoffen eine zentrale Position ein (WEEKES 1991; McGUIRE et al. 1995a; LEMOSQUET et al. 1997) und gilt bei allen Spezies als wichtigstes anaboles Hormon im Organismus.

Um in einem Gewebe eine biologische Wirkung hervorzurufen, muss das Hormon an einen spezifischen Rezeptor binden können (KAHN 1978). Derartige Rezeptoren sind in der Skelett- und Herzmuskulatur, in Fettgeweben, in der Leber, in den Leukozyten, in der laktierenden Milchdrüse, in den Linsen des Auges, in der Hypophyse sowie in peripheren Nervengeweben lokalisiert (LÖFFLER und PETRIEDES 1997). In Abhängigkeit vom Vorhandensein von Insulinrezeptoren wird zwischen insulinabhängigen und insulinunabhängigen Körpergeweben unterschieden.

Insulin fördert die Glucoseverwertung (Lipogenese, Proteinbiosynthese, Glykogenese) und wirkt inhibierend auf die Gluconeogenese und hat damit eine den Blutglucosegehalt senkende Wirkung (GRAF 1984; VOIGT 1996). Die hemmende Wirkung auf die Gluconeogenese beruht auf der insulininduzierten Forcierung der Aufnahme glucogener Ausgangssubstrate durch die Muskulatur und andere periphere Körpergewebe, was in den Hepatozyten zu einem Substratmangel führt (BROCKMAN 1986).

In der Leber hemmt Insulin die Aktivität der Carnitin-Palmityl-Transferase-1 (CPT-1). Dadurch werden weniger freie Fettsäuren in die Mitochondrien der Leberzellen transportiert und so die mitochondriale Ketogenese unterdrückt (KELLER et al. 1988). Auch beim Wiederkäuer ist Insulin das wichtigste antilipolytische Hormon (VERNON 1981). Eine Insulinapplikation führte beim Schaf innerhalb von 5 Minuten zu einer Abnahme der freien Fettsäuren im Plasma (BERGMAN 1968).

Um den Geburtszeitpunkt fällt die Insulinkonzentration stark ab, erreicht zwischen der 2. und 4. Woche p.p. ihr Minimum und steigt mit fortschreitender Laktation wieder an, wobei sich die höchste Konzentration zum Laktationsende sowie während der Trockenstehperiode einstellt (LOMAX et al. 1979; HOVE 1978; FLACH et al. 1984; HERBEIN et al. 1985; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000). Die Abbildung 6 gibt den charakteristischen Verlauf der Insulinkonzentration bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum wieder.

Dieser physiologische Abfall der Insulinkonzentration hemmt die Nährstoffaufnahme in peripheren Körpergeweben und unterstützt somit die Nährstoffleitung in Richtung Milchdrüse. Der Abfall des anabol wirkenden

Insulins begünstigt die Mobilisation von Körperfett in der Frühlaktation (GIESECKE et al. 1987a,b; BLUM et al. 1999). Der postpartale Insulinabfall ist ein Teil der endokrin vermittelten, homöostatischen Anpassungsreaktion des Stoffwechsels im peripartalen Zeitraum. HOLTENIUS et al. (2003) registrierten einen Konzentrationsabfall von ca. 20  $\mu\text{U/ml}$  während der letzten Woche a.p. auf einen Wert von etwa 5  $\mu\text{U/ml}$ . Bis zur 12. Woche p.p. stieg die Insulinkonzentration in dieser Studie wieder auf 7  $\mu\text{U/ml}$  an.

Bei Tieren mit hoher Leistung fällt die Insulinkonzentration p.p. stärker ab und bleibt länger auf niedrigem Niveau als bei leistungsschwächeren Tieren (WILM 1990). Darüber hinaus ist während der Frühlaktation eine verminderte Insulinantwort der Zielgewebe, eine Insulinresistenz, zu beobachten (GIESECKE et al. 1987c,d; BAUMAN 2000). Die Insulinresistenz kennzeichnet eine Stoffwechselsituation, bei der eine physiologische Insulinkonzentration lediglich eine subnormale biologische Antwort induziert (RIZZA et al. 1981; METCALF und WEEKES 1988; KAHN 1980). Dadurch erhöht sich die hepatische Glucoseproduktion, zeitgleich sinkt der Glucoseverbrauch in extramammären Geweben (BAUMAN 2000).

#### **2.2.4.2 Glucagon**

Glucagon, ein Peptidhormon aus 29 Aminosäuren, wird in den  $\alpha$ -Zellen des Pankreas synthetisiert und gilt neben dem Insulin als Schlüsselhormon der Glucosehomöostase (WILLIAMS et al. 2006).

Glucagon wirkt in der Leber, im Gehirn, im Pankreas, in den Nieren, im Intestinaltrakt, in den Fettgeweben sowie in der Muskulatur (CHRISTOPHE 1995; BURCELIN und KATZ 1996), wobei das Hauptzielorgan für Glucagon die Leber ist (SHE et al. 1999).

Die Glucagonsekretion wird bei einer hypoglykämischen Stoffwechsellage stimuliert und durch Hyperglykämie bzw. den Antagonisten Insulin inhibiert (CRYER et al. 2003). Bei monogastrischen Spezies fördert auch eine proteinreiche Diät die Freisetzung von Glucagon. Beim Wiederkäuer steigern die kurzkettigen Fettsäuren Propionat und Butyrat die Glucagonausschüttung im Pankreas (BROCKMAN 1978).

Glucagon wirkt als modulierender Antagonist des Insulins hyperglykämisch. Es stimuliert die hepatische Gluconeogenese und die Glycogenolyse und erhöht damit die Glucoseproduktion in den Hepatozyten (CHERRINGTON und LILJENQUIST 1981; CHERRINGTON et al. 1987; WILLIAMS et al. 2006). Gleichzeitig werden die Glycogensynthese und die Glycolyse gehemmt (BROCKMAN und BERGMAN 1975). Bei Hypoglykämie führt neben Adrenalin und Glucocorticoiden auch die Wirkung des Glucagons zu einer vermehrten Glucoseausschleusung aus der Leber. Insulin wiederum hemmt diesen Vorgang.

Glucagon und Insulin gelten als primäre Regulatoren der Glucosekonzentration im Blut, wobei dem Insulin dabei offenbar die größere Bedeutung zukommt (HERBEIN et al. 1985). Zu diesem Ergebnis kam auch STANGASSINGER (1997). Der Autor zeigte, dass das für eine ausreichende Glucosebereitstellung notwendige, niedrige Insulin/Glucagon-Verhältnis stärker durch die Abnahme der Insulin- als durch den Anstieg der Glucagonkonzentration bestimmt wird.

#### **2.2.4.3 Insulin-like growth factor-1**

Insulin-like growth factor-1 ist ein basisches Polypeptid und gehört zu den Wachstumsfaktoren, die eine starke mitogene Funktion besitzen und die DNA-Synthese (VEGA et al. 1991) sowie die Zelldifferenzierung stimulieren. Das Peptid ähnelt in Struktur und Wirkungsmechanismus stark dem Insulin. Die Synthese des IGF-1 findet in der Leber, in den Ovarien, in der Plazenta, im Trophoblast sowie in vielen anderen Körperzellen statt und wird unter anderem durch Somatotropin stimuliert (LUCY 2000). Der Hauptsyntheseort des IGF-1 ist die Leber. Die Synthese wird neben Somatotropin auch durch Prolaktin und Zytokine reguliert (SARA und HALL 1990).

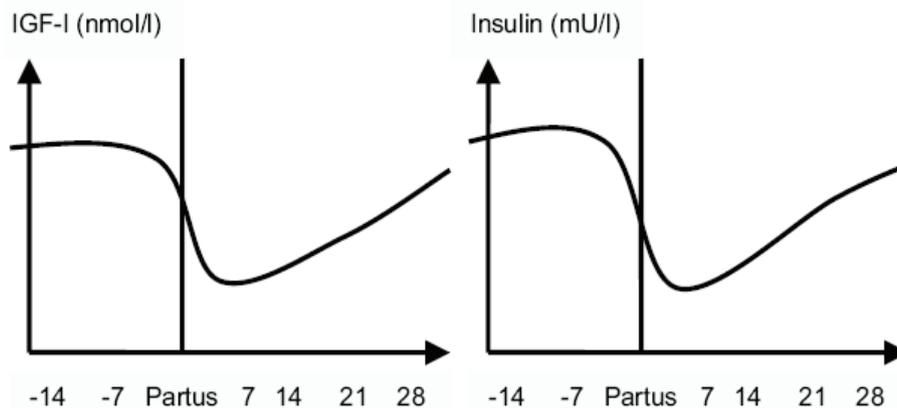
Somatotropin und IGF-1 beeinflussen das Wachstum, die Laktation und die Reproduktion. Insulin-like growth factor-1 kommt im Blut fast ausschließlich in gebundener Form vor. Die verschiedenen Bindungsproteine nehmen Einfluss auf die biologische Wirkung des IGF-1. Durch die Bindung an IGF Typ 1, aber auch an den Insulin-Rezeptor werden die biologischen Wirkungen des Insulin-like growth factor-1 vermittelt (McCUSKER 1998). Insulin-like growth factor-1

beeinflusst die Proliferation, Differenzierung und Hypertrophie verschiedener Zellarten.

In der Milchdrüse hat IGF-1 durch die Stimulation des Wachstums der Epithelzellen einen positiven Effekt auf die Mammogenese und Laktogenese (VEGA et al. 1991). Am Ovar stimulieren IGF-I und Insulin die Synthese von Östradiol-17 $\beta$  in den Granulosazellen (GUTIERREZ et al. 1997; GLISTER et al. 2001; ARMSTRONG et al. 2003; BUTLER et al. 2004) sowie die Proliferation der Follikelzellen (SPICER et al. 1993; SPICER und STEWART 1996).

Im Zeitraum um den Partus ist, wie beim Insulin, auch beim IGF-1 ein charakteristischer Abfall der Serumkonzentration zu beobachten (VEGA et al. 1991; MALLARD et al. 1997; TAYLOR et al. 2004). Auf einen Konzentrationsabfall zwischen der 2. Woche a.p. und der 1. - 4. Woche p.p. (JANOSI et al. 2003) folgt ein Anstieg der Konzentration (MALLARD et al. 1997). PRANGE (2001) gibt für die IGF-1-Konzentration einen Referenzbereich um 250 ng/ml während der letzten zwei Wochen a.p., oberhalb 100 ng/ml zum Partus, sowie bis zu 50 ng/ml nach der erneuten Konzeption an. Die Abbildung 6 zeigt einen charakteristischen Verlauf der Konzentration an Insulin-like growth factor-1 bei Milchkühen im geburtsnahen Zeitraum.

Nach CHIESA et al. (1991) ist die IGF-1-Konzentration im Blut hauptsächlich vom metabolischen Status der Milchkuh abhängig. Je stärker die negative Energiebilanz ausgeprägt ist, desto niedriger ist die Konzentration von IGF-1 im Serum (SPICER et al. 1990). Das Wachstum ovulatorischer Follikel wird sowohl von Insulin als auch von Insulin-like growth factor-1 gesteuert und ist somit vom Energiestatus der Milchkuh abhängig (SPICER et al. 1990; LUCY et al. 1992). Darüber hinaus gilt IGF-1 als Regulator der präovulatorischen Endreifung während der ersten Follikelreifungswelle p.p. (BEAM und BUTLER 1998). Milchkühe, die während der ersten Follikelreifungswelle p.p. ovulierten, hatten höhere IGF-1-Konzentrationen als anovulatorische (BEAM und BUTLER 1998; KAWASHIMA et al. 2007a).



**Abb. 6:** Typischer Verlauf der peripartalen Insulin- und IGF-1-Konzentration bei Milchkühen; nach BLUM (1992)

#### 2.2.4.4 Leptin

Das Proteohormon Leptin ist erstmals von ZHANG et al. (1994) beschrieben worden. Das Hormon wird primär in den Adipozyten des weißen Fettgewebes synthetisiert (MAFFEI et al. 1995; MASUZAKI et al. 1995) und kann frei oder an Leptin-bindende Proteine gebunden im Blut zirkulieren (SINHA et al. 1996; HOUSEKNECHT und PORTOCARRERO 1998). Beim Menschen und bei Nagern ist auch eine Synthese in der Plazenta (HOGGARD et al. 1998) und im Magen (BADO et al. 1998) beschrieben worden.

Reguliert wird die Leptinsekretion sowie die Expression der Leptinrezeptoren durch das zentrale Nervensystem (TRAYHURN et al. 1989) und Hormone wie Insulin, Glucocorticoide, Schilddrüsenhormone und Östradiol (FRIEDMAN und HALAAS 1998; HOUSEKNECHT und PORTOCARRERO 1998).

Zunächst wurde die Bedeutung des Leptins in einer „Sensorfunktion“ des Fettgewebes erkannt (ZHANG et al. 1994). Später stellte sich heraus, dass Leptin als Verbindungsglied zwischen den Fettgeweben und den für die Regulation der Futteraufnahme und des Energiestoffwechsels verantwortlichen Hirnfunktionen anzusehen ist (VERNON und HOUSEKNECHT 2000).

Bei vielen Spezies ist Leptin an der homöostatischen Regulation wichtiger Stoffwechselprozesse beteiligt. Als gesichert gilt, dass Leptin bei der homöostatischen Regulation physiologischer Mechanismen des Fett- und Energiestoffwechsels, der Futteraufnahme, bei Entzündungsreaktionen, bei der Thermoregulation durch das braune Fettgewebe sowie bei

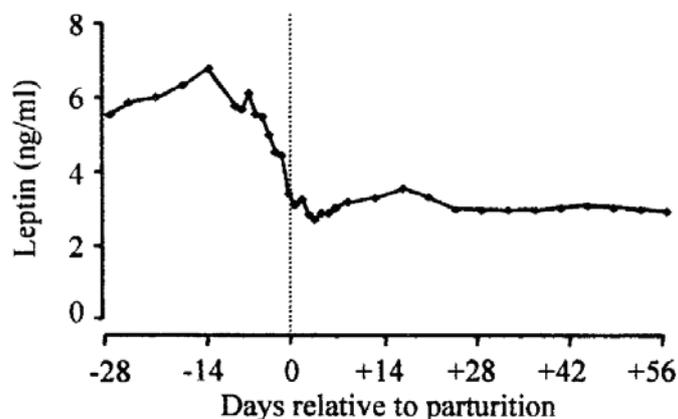
Reproduktionsfunktionen und der zellvermittelten Immunabwehr beteiligt ist (HOUSEKNECHT und PORTOCARRERO 1998; FRIEDMAN und HALAAS 1998; KEISLER et al. 1999; CUNNINGHAM et al. 1999; AHIMA 2000; VERNON et al. 2001; CHILLIARD et al. 2001).

Beim Menschen, beim Schwein und bei Nagern wurde ein positiver Zusammenhang zwischen der Leptinkonzentration im Serum und dem Grad der Körperverschmälerung festgestellt (FRIEDMAN und HALAAS 1998; HOUSEKNECHT und PORTOCARRERO 1998). Ähnliche Zusammenhänge fanden JI et al. (1998), CHILLIARD et al. (1998b) und DELAVAUD et al. (2002) beim Rind sowie KUMAR et al. (1998) und DELAVAUD et al. (2000) beim Schaf.

Im Zeitraum vor dem Partus korreliert die Leptinkonzentration mit der Note des body condition scores (EHRHARDT et al. 2000; WATHES et al. 2007).

VERNON und HOUSEKNECHT (2000) gehen davon aus, dass der Organismus über die Leptinkonzentration in der Lage ist, seine Fettreserven zu sondieren und die Futteraufnahme bzw. den gesamten Fettstoffwechsel entsprechend auszurichten. Bei Wiederkäuern, die sich im geburtsnahen Zeitraum in einer Phase energetischer Unterversorgung befinden, fällt die Leptinkonzentration im Serum stark ab (INGVARTSEN und BOISCLAIR 2001). Dies beobachteten BLACHE et al. (2000) und DELAVAUD et al. (2000) bei Schafen und BLOCK et al. (2001), HOLTENIUS et al. (2003) sowie REIST et al. 2003 bei Milchkühen.

Die Abbildung 7 zeigt einen charakteristischen Verlauf der Leptinkonzentration im Plasma bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum:



**Abb. 7:** Peripartale Leptinkonzentration bei multiparen Milchkühen (BLOCK et al. 2001)

HOLTENIUS et al. (2003) untersuchten die peripartale Leptinkonzentration bei Milchkühen in Abhängigkeit von der energetischen Versorgung während der Transitperiode. Sie stellten fest, dass die Leptinkonzentration im Zeitraum zwischen dem Trockenstellen und der 3. Woche a.p. ansteigt. Sowohl die Ausgangskonzentration zum Zeitpunkt des Trockenstellens als auch der Anstieg bis zur 3. Woche a.p. korrelierten signifikant mit der energetischen Versorgung. Im Zeitraum zwischen der 3. Woche a.p. und der 1. Woche p.p. fiel die Konzentration in der Studie unabhängig von der energetischen Versorgung auf eine Basalkonzentration zurück und veränderte sich bis zur 12. Woche p.p. nicht signifikant.

## **2.2.5 Leberparameter**

### **2.2.5.1 Fettgehalt**

Der Fettgehalt der Leber wird in erster Linie von der Menge der in den Hepatozyten akkumulierten Triglyceride bestimmt und unterliegt bei Milchkühen in Abhängigkeit vom Laktationsstadium erheblichen dynamischen Veränderungen (REID 1980). In der Studie von REID (1980) zeigten auch alle klinisch gesunden Milchkühe während der ersten Woche p.p. eine histologisch nachweisbare Fetteinlagerung in der Leber. Bei 63 % dieser Tiere wurde die Fettinfiltration als moderat bis schwer eingestuft.

Der vor allem bei Hochleistungstieren im Zeitraum um den Partus feststellbare Anstieg des Leberfettgehaltes ist das Resultat der exzessiven Überschwemmung der Leber mit den bei der verstärkten Lipolyse in den Fettgeweben freigesetzten und im Blut transportierten freien Fettsäuren (HERDT 1988a; GRUMMER 1993; RUKKWAMSUK et al. 1998; RUKKWAMSUK et al. 2000; BOBE et al. 2004). Die hepatische Fettsäureaufnahme sowie die Veresterung und Speicherung von Triglyceriden in der Leber verhält sich proportional zur NEFA-Konzentration im Blut (BERTICS et al. 1992; GRUMMER 1993; GRUM et al. 1996; GRUMMER et al. 2000). Den Anstieg des Fettgehaltes führt RUKKWAMSUK (1999) neben der erhöhten NEFA-Aufnahme durch die Leber und die zunehmende Triglyceridsynthese in den Hepatozyten auch auf eine gleichzeitige Unfähigkeit

zur Steigerung der VLDL-Synthese und damit eine verminderte Kapazität zur Ausschleusung freier Fettsäuren zurück.

Faktoren, die sich prädisponierend auf eine massive Lipidakkumulation auswirken, sind übermäßige Fettdepots während der Trockenstehperiode (FÜRLI 1997; HERDT 1988a; RUKKWAMSUK et al. 1998), eine energetische Unterversorgung während der Frühaktation (REID et al. 1980) sowie eine hohe Milchleistung und die Neigung zum überstürzten postpartalen Körperfettabbau (FILAR et al. 1994; RUKKWAMSUK et al. 1999b). STAUFENBIEL et al. (1991) beschrieben einen engen Zusammenhang zwischen der postpartalen Rückenfettdickenabnahme und dem Anstieg des Leberfettgehaltes in der Frühaktation. Die Autoren konnten damit die gleichzeitige Zunahme der Lipolyserate und des Leberfettgehaltes zeigen. DRACKLEY (2003) fand, basierend auf dem Datenmaterial von DOUGLAS (2002), einen positiven Zusammenhang zwischen der Depression des Trockensubstanzaufnahmevermögens während der letzten 3 Wochen a.p. und dem Triglyceridgehalt am 1. Tag p.p..

Die Einlagerung von Triglyceriden in den Hepatozyten beginnt etwas verzögert nach Einsetzen einer verstärkten Lipolyse in den Fettgeweben am Ende der Trockenstehperiode. Im Zeitraum zwischen dem Partus und der 3. Woche p.p. findet die maximale Fetteinlagerung statt, danach nimmt der Leberfettgehalt bis zur Laktationsmitte wieder ab (FÜRLI et al. 1992; VAZQUEZ-AÑON et al. 1994). Gewöhnlich ist der höchste Leberfettgehalt in der Zeit zwischen dem 7. und 14. Tag p.p. (STAUFENBIEL et al. 1992c; VAN DEN TOP et al. 1995, 1996; RUKKWAMSUK et al. 1999a), mit einem Maximalwert um den 10. Tag p.p. (UNDERWOOD 2003), zu beobachten.

GERLOFF und HERDT (1984) sowie STAUFENBIEL et al. (1987) halten während der 2. Woche p.p. einen Leberfettgehalt (gesamte Lipide) um 15 % in der Leberfrischmasse für physiologisch. Der Leberfettgehalt kann in diesem Zeitraum bis auf Werte um 20 % ansteigen (STÖBER und DIRKSEN 1981; STAUFENBIEL et al. 1991). Eine hepatische Fetteinlagerung in einer solchen Höhe ist nach STAUFENBIEL et al. (1989a) noch nicht pathologisch, erhöht jedoch das Erkrankungsrisiko. AHMED (2004) bezeichnet einen Leberfettgehalt

(gesamte Lipide bezogen auf die Originalsubstanz) kleiner 15,5 % als normal, im Bereich größer 15,5 % - 26,0 % als gering erhöht, im Bereich größer 26,0 % - 33,0 % als moderat erhöht und größer 33,0 % als stark erhöht.

Moderate Fetteinlagerungen während der Frühlaktation sind als physiologisch einzustufen, da sie reversibel sind und die Leberfunktion kaum beeinträchtigen (ROSSOW 2003b). Massive Fetteinlagerungen in den Hepatozyten gehen jedoch mit Störungen metabolischer Funktionen der Leber einher (GRUMMER 1993; VAN DEN TOP et al. 1996; DRACKLEY 1999) und können zu Beeinträchtigungen der Tiergesundheit sowie des produktiven und reproduktiven Leistungsvermögens führen (WENSING et al. 1997; GEELEN und WENSING 2006). Die exzessive Leberverfettung während der Frühlaktation ist bei Milchkühen mit hoher Milchleistung eine der bedeutsamsten metabolischen Störungen im peripartalen Zeitraum (GOFF und HORST 1997; DRACKLEY 1999; JORRITSMA et al. 2001; GEELEN und WENSING 2006). Die Zusammenhänge zwischen der Leberverfettung und der Gluconeogeneserate sind noch nicht vollständig geklärt. CADORNIGA-VALIÑO et al. (1997) beobachteten im In-vitro-Modell bei isolierten Kälberhepatozyten bei einer Erhöhung der Triglyceridakkumulation eine Abnahme der gluconeogenetischen Kapazität. Diese Ergebnisse ließen sich jedoch in einem weiteren Experiment derselben Forschungsgruppe nicht reproduzieren (STRANG et al. 1989). Im Vergleich zu gesunden Kontrollkühen wurde im Lebergewebe von Milchkühen mit Fettleber bzw. Ketose eine geringere Kapazität zur Glucoseproduktion aus Propionat festgestellt (MILLS et al. 1986; VEENHUIZEN et al. 1991).

#### **2.2.5.2 Glykogengehalt**

Glykogen, ein Polymer aus 1,4- und 1,6-glykosidisch verbundenen D-Glucosemolekülen, dient im tierischen Organismus zur kurz- bis mittelfristigen Speicherung und Bereitstellung von Glucose. Das auch als tierische Stärke bezeichnete Polysaccharid wird hauptsächlich in der Leber, aber auch im Muskelgewebe, im Nierengewebe, im Gehirn sowie in weiteren Körpergeweben synthetisiert und gespeichert. Jedoch sind nur die Leberzellen

aufgrund des Vorkommens des Enzyms Glucose-6-phosphatase befähigt, Glycogen wieder in Glucose umzubauen und die akkumulierten Kohlenhydrate so dem Organismus erneut zur Verfügung zu stellen. Der Glykogenspeicher der Leber spielt eine wichtige Rolle bei der Glucosehomöostase. Aufgrund der raschen Mobilisierbarkeit dient der Metabolit insbesondere zum kurzfristigen Abpuffern niedriger Glucosekonzentrationen im Blut. Der physiologische Bereich des Glykogengehaltes im Lebergewebe wird bei Milchkühen mit 1,0 - 4,0 %, bezogen auf die Originalsubstanz, angegeben (KOLB 2005). Im peripartalen Zeitraum zeigt der Glykogengehalt im Lebergewebe eine charakteristische Dynamik. Um den Partus sinkt die Konzentration von einem zuvor relativ konstanten, antepartalen Level deutlich ab, um dann bis etwa zur 4. Woche p.p. wieder das präpartale Ausgangsniveau zu erreichen (RUKKWAMSUK et al. 1999a; GREENFIELD et al. 2000; UNDERWOOD 2003; DRACKLEY et al. 2005). HARTMANN et al. (1980) sehen einen Zusammenhang zwischen dem sinkenden postpartalen Glykogengehalt und dem parallelen Abfall der Insulinkonzentration und erklären diesen mit der stimulierenden Wirkung des Insulins bei der Glykogenese.

### **2.2.5.3 Schlüsselenzyme der Gluconeogenese**

Die Enzyme Pyruvatcarboxylase (PC), Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK) und Glucose-6-phosphatase (G6Pase) gelten als Schlüsselenzyme der hepatischen Gluconeogenese (TILGHMAN et al. 1974; LÖFFLER und PETRIDES 1997; WALLACE et al. 1998; SHE et al. 1999; VELEZ und DONKIN 2004,2005). Von der Aktivität dieser Enzyme wird die Gluconeogeneserate bestimmt (ROGNSTAD 1979; PILKIS und GRANNER 1992; GIRARD et al. 1992; NORDLIE et al. 1999; DONKIN 1999). Darüber hinaus wird durch die Aktivität der einzelnen Enzyme festgelegt, welcher Precursor in welchem Umfang zur Gluconeogenese genutzt wird.

Mit steigender mRNA-Menge erhöht sich bei Labornagern auch die Enzymmenge und damit die Enzymaktivität in der Leber (SALTO et al. 1999). GREENFIELD et al. (2000) und AGCA et al. (2002) fanden auch bei Milchkühen in der Transitperiode einen positiven, korrelativen Zusammenhang zwischen

der mRNA-Menge und der Enzymaktivität von PC und PEPCK. Auch beim neonatalen Kalb sind die exprimierte mRNA-Menge für PC und die Aktivität des Enzyms positiv korreliert (HAMMON et al. 2003).

Für den peripartalen Zeitraum wurden bei Milchkühen sowohl Veränderungen der exprimierten mRNA-Menge (GREENFIELD et al. 2000; HARTWELL et al. 2001; HONG-MEI et al. 2005; LOOR et al. 2006; KARCHER et al. 2007) als auch der Aktivität (RUKKWAMSUK et al. 1999a,c; MURONDOTI et al. 2004) der Schlüsselenzyme beschrieben.

Die Untersuchungen von GREENFIELD et al. (2000), HARTWELL et al. (2001) sowie HONG-MEI et al. (2005) zeigen, dass die exprimierte PC mRNA-Menge im geburtsnahen Zeitraum signifikant zunimmt. So fanden GREENFIELD et al. (2000) am 1. Tag p.p. eine 7,5-fach größere mRNA-Menge für PC als am 28. Tag a.p.. HARTWELL et al. (2001) und HONG-MEI et al. (2005) ermittelten bei ihren Untersuchungen die größten PC mRNA-Mengen im Zeitraum zwischen dem 14. Tag a.p. und dem 28. Tag p.p.. KARCHER et al. (2007) fanden am 1. Tag p.p. eine signifikant größere mRNA-Menge für PC als am 28. bzw. 14. Tag a.p.. Ähnliche Ergebnisse erbrachte auch die Untersuchung von MURONDOTI et al. (2004). Die Autoren induzierten durch eine energetische Überversorgung während der Trockenstehphase eine Erhöhung des Leberfettgehaltes und stellten im Zeitraum zwischen der 1. Woche a.p. und der 1. Woche p.p. einen signifikanten Anstieg der PC-Enzymaktivität fest. VELEZ und DONKIN (2005) konnten zeigen, dass sich auch während der Laktation, infolge einer Futterrestriktion die exprimierte mRNA-Menge für Pyruvatcarboxylase signifikant erhöht. BRADFORD und ALLEN (2005) induzierten während der Laktation durch die Verabreichung von Phlorizin einen starken Anstieg der Glucoseausschüttung über den Harn (YOUNG et al. 1974) und beobachteten daraufhin bei den Versuchstieren eine signifikant größere PC mRNA-Menge als in der unbehandelten Kontrollgruppe.

Während der Frühlaktation nimmt auch die exprimierte mRNA-Menge für PEPCK zu (GREENFIELD et al. 2000; HARTWELL et al. 2001; AGCA et al. 2002; HONG-MEI et al. 2005; KARCHER et al. 2007). Im Gegensatz zur PC erfolgt der Anstieg der Genexpression für die PEPCK nicht unmittelbar zum

Partus, sondern erst allmählich mit der Zunahme der Trockensubstanzaufnahme in der Früh lactation. Sowohl GREENFIELD et al. (2000) und HARTWELL et al. (2001) als auch HONG-MEI et al. (2005) fanden bei ihren Studien am 28. Tag p.p. eine signifikant größere mRNA-Menge für PEPCK als am 1. Tag p.p.. AGCA et al. (2002) beobachteten im Zeitraum zwischen dem 28. Tag a.p. und dem 28. Tag p.p. eine kontinuierliche Zunahme der exprimierten mRNA-Menge für die cytosolische PEPCK. Diese Ergebnisse werden auch durch die Untersuchung von KARCHER et al. (2007) unterstützt. Die Autoren fanden am 28. Tag p.p. eine größere exprimierte mRNA-Menge der cytosolischen Form der PEPCK als am 28. Tag a.p.. Darüber hinaus wurde in dieser Studie bei Tieren, denen zur Erhöhung der ruminalen Propionatproduktion (PRANGE 1978; DUFFIELD et al. 2002) präpartal Monensin verabreicht wurde, am 14. Tag a.p. sowie am 1. Tag p.p. eine größere PEPCK-C mRNA-Menge als in der unbehandelten Kontrollgruppe festgestellt. RUKKWAMSUK et al. (1999c) fanden bei Milchkühen, die infolge einer energetischen Überversorgung während der Trockenstehperiode postpartal einen gegenüber der Kontrollgruppe signifikant höheren Triglyceridgehalt des Lebergewebes aufwiesen, eine geringere PEPCK-Aktivität im geburtsnahen Zeitraum. In der Studie war die Enzymaktivität in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt zu den Zeitpunkten 1 Woche a.p., 0,5 Wochen p.p. sowie 2 Wochen p.p. signifikant geringer als in der Kontrollgruppe. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten MURONDOTI et al. (2004). Bei ihren Untersuchungen wiesen Milchkühe mit erhöhten Leberfettgehalten während der 1. und 2. Woche p.p. eine signifikant geringere PEPCK-Aktivität auf als die Kontrolltiere mit geringeren Leberfettgehalten.

Mit dem Partus erhöht sich auch die Aktivität der G6Pase (RUKKWAMSUK et al. 1999c; MURONDOTI et al. 2004). RUKKWAMSUK et al. (1999c) stellten während der Früh lactation sowohl in der Gruppe mit höherem Leberfettgehalt als auch in der Kontrollgruppe mit geringerem Leberfettgehalt eine größere Enzymaktivität als vor dem Partus fest. Darüber hinaus wurden in der Gruppe mit höherem Leberfettgehalt zum Zeitpunkt 0,5 Wochen p.p. eine tendenziell höhere Aktivität als in der Kontrollgruppe beobachtet. Zu ähnlichen Ergebnissen

gelangten MURONDOTI et al. (2004). In ihrer Studie fanden die Autoren während der Frühaktation sowohl in der Versuchsgruppe mit hohem Leberfettgehalt als auch in der Kontrollgruppe eine größere Aktivität der Glucose-6-phosphatase als vor dem Partus. In der Gruppe mit höherem Leberfettgehalt unterschied sich die Aktivität des Enzyms zu den Zeitpunkten 1. Woche p.p. und 4. Woche p.p. signifikant von der Enzymaktivität in der 1. Woche a.p..

### **2.2.6 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühaktation**

Die Gravidität kann als eine physiologische Unterbrechung des Sexualzyklus aufgefasst werden, da gravide Tiere kein Brunstverhalten zeigen und somit de facto anöstrisch sind (MEINECKE 2000). Unmittelbar nach dem Partus kommt es in der Frühaktation neben den puerperalen Rückbildungs- und Reinigungsprozessen zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion. Die vollständige Wiederaufnahme der regelmäßigen, zyklischen Veränderungen der ovariellen Funktionskörper (Follikel, Corpus luteum) stellt eine physiologische Voraussetzung für eine erneute Konzeption dar.

Die erste Follikelreifungswelle nach dem Partus kann im Zeitraum zwischen dem 4. (GINTHER et al. 1996a,b) und 12. (SAVIO et al. 1990; HAUGHIAN et al. 2002) Tag p.p. beobachtet werden. Etwa um den 15. Tag p.p. befinden sich erneut ovulationsreife Follikel auf den Ovarien. Der aus der ersten postpartalen Follikelreifungswelle hervorgehende, dominante Follikel kann entweder ovulieren, atresieren oder zystisch degenerieren (LUCY 2004). Hat eine Ovulation stattgefunden, bildet sich an der Stelle des ovulierten Follikels ein Corpus luteum (C.I.) heran (DÖCKE 1994). Mit zunehmendem Wachstum nehmen im C.I. sowohl die Synthese als auch die Sekretion des Ovarsteroids Progesteron ( $P_4$ ) zu.

Die in der Milch gemessene Progesteronkonzentration steht in unmittelbarer Beziehung zur Funktion des Corpus luteum (HOFFMANN und HAMBURGER 1973; RUIZ et al. 1989). Die gemessene Progesteronkonzentration gibt Aufschluss über die Anwesenheit bzw. Abwesenheit eines aktiven C.I. (VAN DER WELJEDEN und TAVERNE 1999). Mit der Bestimmung der

Milchprogesteronkonzentration steht damit eine objektive Methode zur Überwachung der postpartalen Reproduktionsaktivität zur Verfügung. So lässt sich der Zeitpunkt der ersten Ovulation nach dem Partus anhand des auf die Ovulation folgenden Anstieges der Milchprogesteronkonzentration (luteale Aktivität) feststellen (PUSHPAKUMARA et al. 2003; PETERSSON et al. 2006; WINDIG et al. 2008).

Bei einigen Tieren kann bereits um den 15. Tag p.p. die erste Ovulation beobachtet werden (BOSTEDT et al. 1985; GRUNERT 1999), bei der überwiegenden Mehrzahl ist dies erst zu einem späteren Zeitpunkt der Fall. Nach BOSTEDT et al. (1985) setzt die Ovarfunktion bei 20,4 % der Tiere früh (15. - 25. Tag p.p.), bei 34,7 % verzögert (um den 30. Tag p.p.), bei 40,8 % der Tiere nach dem klinischen Puerperium (40. - 72. Tag p.p.) ein, während bei 4,1 % der Tiere bis zum 72. Tag p.p. kein messbarer Progesteronanstieg zu beobachten war. FERGUSON (1996) ermittelte bei der Auswertung von 10 Studien mit Holsteinkühen in den USA ein mittleres Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation von 33,3 Tagen. PATTON et al. (2007) stellten die erste luteale Aktivität nach dem Partus bei Hochleistungskühen im Mittel am 31. Tag p.p. fest. BUTLER et al. (1981) und SCHOPPER et al. (1989) detektierten die erste Ovulation p.p. im Mittel am 36. Tag p.p. bzw. zeigten, dass 28,5 % der untersuchten Milchkühe eine postpartale Azyklie von mehr als 28 Tagen aufwiesen. Nach SHRESTHA et al. (2004a) gelangt bei über 80 % der Hochleistungskühe erst nach dem 50. Tag p.p. ein Follikel zur Ovulation.

Der Zeitpunkt des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion nach dem Partus beeinflusst maßgeblich die spätere Fruchtbarkeitsleistung (DARWASH et al. 1997; LUCY et al. 1992). Es konnte gezeigt werden, dass bei Hochleistungskühen der Zeitpunkt des Auftretens der ersten Ovulation nach dem Partus eng mit einer frühen Wiederaufnahme der regelmäßig zyklischen Ovarfunktionen sowie kurzen Rast- und Gützeiten verbunden ist (DARWASH et al. 1997; SENATOR et al. 1996). Eine Verlängerung der anovulatorischen Phase ist mit einer verminderten Konzeptionsrate assoziiert (DARWASH et al. 1997; WESTWOOD et al. 2002; BUTLER 2003). Nach der Auffassung von BUTLER et al. (2006) sollten Milchkühe daher möglichst schnell nach dem

Partus zu einer regelmäßigen Zyklizität zurückkehren. KAWASHIMA et al. (2006) beobachteten, dass Kühe, die bereits während der ersten drei Wochen p.p. ovulierten, schneller zu einem regelmäßigen Ovarzyklus zurückkehrten als Tiere, bei denen erst nach der 3. Woche p.p. eine Ovulation stattfand. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Konzeptionsrate laktierender Milchkühe positiv durch die Anzahl der vor der Insemination abgelaufenen ovulatorischen Zyklen beeinflusst wird (FERNANDES et al. 1978; BUTLER und SMITH 1989; SCHILLO 1992; SENATOR et al. 1996).

Milchkühe mit einem höheren Leistungsniveau haben ein längeres Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation (BUTLER und SMITH 1989; LUCY 2001), was sich zum Teil mit der stärkeren negativen Energiebilanz erklären lässt (LUCY 2001; BEAM und BUTLER 1999).

Das Auftreten einer Ovulation nach dem Partus setzt voraus, dass sämtliche an der Reproduktion beteiligten Organe nach der Gravidität und dem Partus ihre volle Funktion wiedererlangt haben (BUTLER 2005). Am Ovar muss ein Follikel, nach Rekrutierung und Selektion, Dominanz erlangen und dabei ovulatorische Kompetenz erreichen. Dazu müssen die Gonadotropine Luteinisierendes Hormon (LH) und Follikelstimulierendes Hormon (FSH) durch die Hypophyse erneut in einem Sekretionsmuster abgegeben werden, welches Wachstum und Ovulation des Follikels unterstützt. In der Leber muss neben der Gluconeogenese und der Fettsäureoxidation auch die Produktion und Sekretion von IGF-1 forciert werden. Die Wiederaufnahme dieser Funktionen in den entsprechenden Körpergeweben wird durch das peripartale Energiedefizit beeinträchtigt (BUTLER 2003; OVERTON 2001). Die negative Energiebilanz beeinflusst den Zeitpunkt des Auftretens der ersten Ovulation nach dem Partus (BEAM und BUTLER 1999; LUCY 2001). Dabei beeinträchtigen sowohl das Ausmaß als auch die Dauer der negativen Energiebilanz das Wiedereinsetzen des ovariellen Zyklus sowie die spätere Fruchtbarkeitsleistung (BUTLER und SMITH 1989; BEAM und BUTLER 1997).

Ausmaß und Dauer der negativen Energiebilanz korrelieren positiv mit dem Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation nach dem Partus (BOSTEDT 1997; BUTLER und SMITH 1989; BUTLER 2000, BUTLER et al.

2006). CANFIELD und BUTLER (1990) fanden in ihrer Studie eine enge Korrelation zwischen der Dauer bis zum Erreichen des Tiefpunktes der Energiebilanz in der Frühlaktation und dem Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation und schlussfolgerten daraus, dass die erste Ovulation nach dem Partus erst nach Durchschreiten des Tiefpunktes der Energiebilanz auftritt. BUTLER und SMITH (1989) hatten zuvor ein durchschnittliches Intervall von 10 Tagen zwischen dem Tiefpunkt der Energiebilanz und der darauf folgenden ersten Ovulation festgestellt. CANFIELD et al. (1990) beobachteten den Tiefpunkt der Energiebilanz im Mittel am 28., die erste Ovulation am 29. Tag p.p.. Die Autoren gehen davon aus, dass die Hypophysen-Ovar-Achse ihre volle Aktivität erst dann wiedererlangt, wenn der energetische Tiefpunkt durchschritten wurde. EVANS (2003) konnte zeigen, dass Tiere, die ein längeres Intervall zwischen dem Partus und dem Ausgleich der Energiebilanz aufweisen, auch ein längeres Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation nach dem Partus haben.

Nach BUTLER et al. (2006) geht die negative Energiebilanz in der Frühlaktation mit einer Absenkung der pulsatischen LH-Sekretion durch die Hypophyse einher, was sich negativ auf die Produktion und Sekretion von Ovarsteroiden sowie inhibierend auf das Auftreten einer Ovulation auswirkt. So ist eine Zunahme des energetischen Defizits mit einer Abnahme der LH-Pulsfrequenz assoziiert (BEAM und BUTLER 1999; BUTLER 2000). Zur Ovulation eines dominanten Follikels ist jedoch ein Anstieg der LH-Konzentration (präovulatorischer LH-Peak) von essentieller Bedeutung (KANITZ et al. 2003).

Darüber hinaus beeinträchtigen die sich in der Phase mit negativer Energiebilanz verändernden Konzentrationen an zirkulierenden Hormonen und Metaboliten die folliculäre Reaktion auf die gonadotropine Stimulation (BUTLER et al. 2006). So ist die Frühlaktation durch abgesenkte Blutkonzentrationen an Insulin, IGF-1, Leptin und Glucose sowie erhöhte Konzentrationen an freien Fettsäuren, Betahydroxybutyrat und Glucocorticoiden gekennzeichnet (EVANS 2003; BUTLER et al. 2006). Nach OBESE et al. (2004) und SHRESTHA et al. (2004b) verstärken hohe postpartale Konzentrationen an freien Fettsäuren das Risiko einer verzögerten ersten Ovulation nach dem Partus. Insulin und IGF-1

haben einen direkten, positiven Einfluss auf das Follikelwachstum (KANITZ et al. 2003) und stimulieren die Östradiolsynthese (GLISTER et al. 2001; ARMSTRONG et al. 2003; BUTLER et al. 2004). GONG et al. (2002) beobachteten bei Milchkühen, bei denen durch ein spezielles Fütterungsregime während der Früh-laktation eine höhere Insulinkonzentration induziert wurde, ein früheres Wiedereinsetzen der Ovarfunktion sowie eine höhere Konzeptionsrate aus Erstbesamung. Milchkühe, bei denen bereits der dominante Follikel der ersten postpartalen Reifungswelle ovulierte, hatten höhere Blutkonzentrationen von IGF-1 als anovulatorische Kontrolltiere (BEAM und BUTLER 1998; KAWASHIMA et al. 2007a). MARR et al. (2002) beobachteten bei Milchkühen, bei denen der erste, postpartal dominante Follikel nicht zur Ovulation gelangte, während der Transitperiode höhere Konzentrationen an freien Fettsäuren und Betahydroxybutyrat sowie eine höhere hepatische Triglyceridakkumulation im Vergleich zu Tieren, bei denen bereits der erste dominante Follikel ovulierte. Nach STAUFENBIEL et al. (1992c) ist der Zeitpunkt des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion in hohem Maße von der Glucoseverfügbarkeit nach dem Partus abhängig.

Bisher ist noch nicht vollständig geklärt, in welchem Zusammenhang das Ausmaß der peripartalen Fettakkumulation in der Leber zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion nach dem Partus steht. RUKKWAMSUK et al. (1999d) stellten bei Milchkühen mit einem hohen hepatischen Triglyceridgehalt gegenüber der Kontrollgruppe mit niedrigerer Triglyceridakkumulation rein numerisch eine Verlängerung des Intervalls zwischen dem Partus und der ersten Ovulation fest; die Differenz konnte jedoch statistisch nicht gesichert werden. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangten OHGI et al. (2005). Die Autoren generierten für ihre Studie bei Hochleistungskühen retrospektiv drei Versuchsgruppen anhand des hepatischen Gesamtlipidgehaltes (normal, mild, moderat) und stellten in der Gruppe mit moderatem Leberfettgehalt eine im Mittel spätere erste Ovulation als in den Gruppen mit mildem und normalem Leberfettgehalt fest. Diese numerischen Unterschiede waren nicht signifikant.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Experimenteller Ansatz**

Für die Untersuchung sollen in einer Hochleistungsherde Tiere identifiziert werden, die sich trotz gleicher Haltungs- und Fütterungsbedingungen im peripartalen Zeitraum hinsichtlich ihrer individuellen metabolischen Belastung unterscheiden. Dazu muss zunächst ein objektiv messbarer Parameter zur Quantifizierung der peripartalen metabolischen Belastung von Hochleistungskühen definiert werden.

Für die Arbeit wird der mittlere postpartale Leberfettgehalt (gesamte Lipide) als Parameter zur quantitativen Beschreibung der peripartalen Stoffwechselbelastung definiert. Dabei wird davon ausgegangen, dass die peripartale metabolische Belastung und der postpartale Leberfettgehalt bei Hochleistungskühen in einem direkten, kausalen Zusammenhang stehen. Eine stärkere, peripartale metabolische Belastung ist demzufolge mit einem höheren postpartalen Leberfettgehalt, eine geringere Stoffwechselbelastung mit einem geringeren postpartalen Leberfettgehalt assoziiert.

Die so identifizierten Probanden mit hoher peripartaler Stoffwechselbelastung (hoher Leberfettgehalt) bzw. niedriger peripartaler Stoffwechselbelastung (niedriger Leberfettgehalt) sollen gruppiert und anschließend hinsichtlich ausgewählter zootecnischer Parameter, stoffwechselrelevanter Hormone und Metabolite, regulatorischer Aspekte des Glucosestoffwechsels sowie der postpartalen Ovarfunktion untersucht bzw. verglichen werden.

#### **3.2 Experimentelles Design**

Für die Untersuchung wurde in der Versuchsherde (Herdenleistung: >11000kg/Kuh/Laktation) des Zentrums für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden, einer Einrichtung der sachsenanhaltinischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau (LLFG), ein Tierexperiment durchgeführt, bei dem zunächst 48 Milchkühe der Rasse Deutsche-Holsteins (DH) im tierindividuellen Untersuchungszeitraum zwischen dem 60. Tag a.p. und dem 56. Tag p.p. bei einheitlichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen unter Produktionsbedingungen gehalten und untersucht wurden. Im Rahmen

der Untersuchung wurden im Untersuchungszeitraum bei den Probanden zu definierten Zeitpunkten (Tabelle 1) Leberbiopsien durchgeführt, Blut- und Milchproben entnommen sowie ausgewählte zootecnische Parameter erfasst. Bei den 48 Probanden wurde zunächst der Fettgehalt (gesamte Lipide) in den gewonnenen Leberbiopsaten bestimmt. Anschließend erfolgte eine retrospektive Gruppierung der Probanden anhand des durchschnittlichen postpartalen Leberfettgehaltes, bei der zwei Untersuchungsgruppen generiert wurden, welche durch die 10 Tiere mit dem höchsten Leberfettgehalt (Gruppe: **hoher LFG**) sowie die 10 Tiere mit dem geringsten Leberfettgehalt (Gruppe: **niedriger LFG**) gebildet wurden.

Die Leberbiopsate der identifizierten Untersuchungstiere dienen darüber hinaus zur Bestimmung des Glykogengehaltes sowie zur quantitativen mRNA-Analyse ausgewählter Schlüsselenzyme der hepatischen Gluconeogenese. Die Blutproben der Probanden der Untersuchungsgruppen wurden zur Bestimmung stoffwechselrelevanter Metabolite und Hormone, die Milchproben zur Bestimmung des Milchprogesterongehaltes genutzt.

Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die bei der Untersuchung erfassten Parameter:

**Tab. 1: Untersuchungsparameter und Untersuchungszeitpunkte**

Parameter	Untersuchungszeitpunkte
<b><u>zootecnische Parameter:</u></b>	
Rückenfettdicke [mm]	60., 20. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 14., 28., 56. d p.p.
Lebendmasse <sup>c</sup> [kg]	Partus, 14., 28., 56. d p.p.
Trockensubstanzaufnahme [kg]	7. d a.p., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. d p.p.
Energiebilanz [MJ NEL/d]	14., 28., 56. d p.p.
Fettkorrigierte Milchleistung [kg]	14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. d p.p.
Milchfettgehalt [%]	14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. d p.p.
Milcheiweißgehalt [%]	14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. d p.p.
Milchlaktosegehalt [%]	14., 21., 28., 35., 42., 49., 56. d p.p.
<b><u>Stoffwechselmetabolite im Blut:</u></b>	
Freie Fettsäuren [mmol/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
Betahydroxybutyrat [mmol/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
Glucose [mmol/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.

<b><u>Hormone im Blut:</u></b>		
Insulin	[µg/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
Glucagon	[ng/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
Insulin-like growth-factor-1	[µg/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
Leptin	[µg/l]	20., 7. d a.p. <sup>a</sup> , Partus, 7., 28., 56. d p.p.
<b><u>Hormone in der Milch:</u></b>		
Progesteron	[ng/ml]	ab 3. Woche p.p. im 7- tägigen Rhythmus
<b><u>Leberparameter:</u></b>		
Leberfettgehalt (gesamte Lipide)	[%] <sup>b</sup>	1., 10., 21. d p.p.
Leberglykogengehalt	[%] <sup>b</sup>	1., 10., 21. d p.p.
Pyruvatcarboxylase		1., 10., 21. d p.p.
mitoch. Phosphoenolpyruvatcarboxykinase		1., 10., 21. d p.p.
cytos. Phosphoenolpyruvatcarboxykinase		1., 10., 21. d p.p.
Glucose-6-phosphatase		1., 10., 21. d p.p.

<sup>a</sup>Tag der Erfassung bezogen auf den errechneten Abkalbetermin

<sup>b</sup>bezogen auf die Originalsubstanz

<sup>c</sup>Parameter zur Berechnung der metabolischen Körpermasse

Wenn in den weiteren Ausführungen im Zusammenhang mit einem Untersuchungsparameter auf den Untersuchungszeitraum Bezug genommen wird, bezieht sich diese Angabe auf den parameterindividuellen Zeitraum (Tabelle1) innerhalb der Untersuchung, in welchem der entsprechende Parameter erfasst wurde.

### 3.3 Probanden

#### 3.3.1 Gruppeneinteilung

Die Auswahl und Zuordnung der Probanden in die entsprechende Untersuchungsgruppe erfolgte retrospektiv anhand des durchschnittlichen postpartalen Leberfettgehaltes. Der durchschnittliche individuelle Leberfettgehalt wurde dazu als arithmetischer Mittelwert aus den Messwerten vom 1., 10. und 21. Tag p.p. berechnet (Anhang, Tabelle A1).

#### 3.3.2 Stoffwechselgesundheit

Keines der 20 Versuchstiere war während des Untersuchungszeitraums klinisch auffällig. Bei keinem der Probanden wurde eine Stoffwechselstörung diagnostiziert.

### 3.3.3 Haltung

Der individuelle Untersuchungszeitraum umfasste 3 Haltungsabschnitte, welche als frühe Trockenstehphase (Trockenstellen - 4. Woche a.p.), Vorbereitungsphase (3. Woche a.p. - Partus) sowie Laktation (Partus - 8. Woche p.p.) definiert wurden. Bei der Definition der Zeitabschnitte vor dem Partus diente jeweils der errechnete Abkalbetermin als Bezugspunkt.

Nach dem Trockenstellen wurden die Versuchstiere bis zur 4. Woche a.p. in Gruppenhaltung in einem Tiefstreu-Laufstall mit Stroheinstreu gehalten. Die Futtermittellieferung erfolgte über ein „Fress-Fanggitter“ an einem befahrbaren Futtertisch.

Vom 21. - 8. Tag a.p. wurden die Probanden in zwei getrennten Gruppen in einem Tiefstreu-Laufstall mit Stroheinstreu im Liegebereich gehalten. Die Futteraufnahme erfolgte auch während dieser Zeit über ein „Fress-Fanggitter“ an einem befahrbaren Futtertisch. Die Standfläche der Fressplätze war als Spaltenboden mit Faltschieberentmischung ausgeführt.

Am 7. Tag a.p. wurden die Probanden in eine Gruppenbox mit Stroheinstreu umgestallt. Die Futterration wurde an Einzeltierfressplätzen angeboten. Als Standfläche der Fressplätze diente eine erhöhte, planbefestigte Betonfläche.

Nach dem Partus wurden die Tiere für ca. 1 Woche in Gruppenboxen mit Stroheinstreu im Liegebereich sowie Spaltenboden im Fressbereich gehalten. Über ein „Fress-Fanggitter“ hatten sie Zugang zum Futtertisch. Im Fressbereich wurde ein Faltschieber zur Entmischung eingesetzt. Anschließend erfolgte eine Umstallung in einen Boxenlaufstall mit Spaltenboden und Faltschieberentmischung. Dort blieben die Probanden bis zum Ende der Untersuchung. Die erhöhten Liegeboxen waren durch Rohrbügel abgetrennt und mit Gummimatten ausgestattet. Die Futterration nahmen die Tiere an Einzeltierfressplätzen auf.

Die Probanden wurden täglich dreimal in einem 2 × 16 side-by-side-Melkstand der Firma DeLaval® (DeLaval®, Tumba, Schweden) gemolken. Die Melkungen erfolgten jeweils von 4.00 - 5.00Uhr, von 12.00 - 13.00Uhr sowie von 20.00 - 21.00Uhr.

### 3.3.4 Fütterung

Während der Untersuchung wurden die Probanden, dem jeweiligen Haltungsabschnitt entsprechend, mit einer bedarfsgerechten Diät (GERMAN SOCIETY OF NUTRITION PHYSIOLOGY 2001) ad libitum versorgt. Sie hatten uneingeschränkten Zugang zu frischem Wasser. Im Untersuchungszeitraum wurden 3 Rationen mit unterschiedlichem Energiegehalt (Tabelle 2) eingesetzt. Im Zeitraum zwischen dem Trockenstellen und dem 22. Tag a.p. wurden die Probanden mit der Ration TROCKEN versorgt. Vom 21. - 8. Tag a.p. erhielten die Probanden die Ration VORBEREITUNG, vom 7. Tag a.p. - 56. Tag p.p. die Ration LAKTATION. Die Zeitabschnitte vor dem Partus wurden anhand des erwarteten, individuellen Abkalbetermins definiert. Bei den Diäten handelte es sich jeweils um eine Totale Mischration (TMR, total mixed ration). Die Zusammensetzung der eingesetzten Futterrationen ist nachfolgend in der Tabelle 2 aufgeführt:

**Tab. 2:** Eingesetzte Futterrationen

Komponenten	kg <sup>a</sup> (%) <sup>b</sup>		
	TROCKEN	VORBEREITUNG	LAKTATION
Maissilage	6 (22)	9 (21)	21 (24)
AWS	18 (64)	14 (43)	18 (31)
Stroh	1,5 (13)	1 (5)	0,5(3)
Heu	-	-	0,5 (2)
Maiskolbenschrot	-	1,2 (13)	3 (14)
Getreide	-	0,4 (6)	1,2 (5)
UDP Raps/Soja beh.	-	0,4 (5)	2 (8)
Rapsextraktionsschrot	-	0,4 (5)	2,5 (10)
Futterfett	-	-	0,3 (1)
Mineralien	0,1 (1)	0,1 (1)	0,25 (1)
Propylenglykol/Glycerin	-	0,15/0,19 (1)	0,25/0,31 (1)
<b>Gehalte/kg<sup>b</sup></b>			
Rfa [g]	240	183	157
Zucker+Stärke [g]	74	190	215
nXP [g]	120	152	175
NEL [MJ]	5,7	6,7	7,0

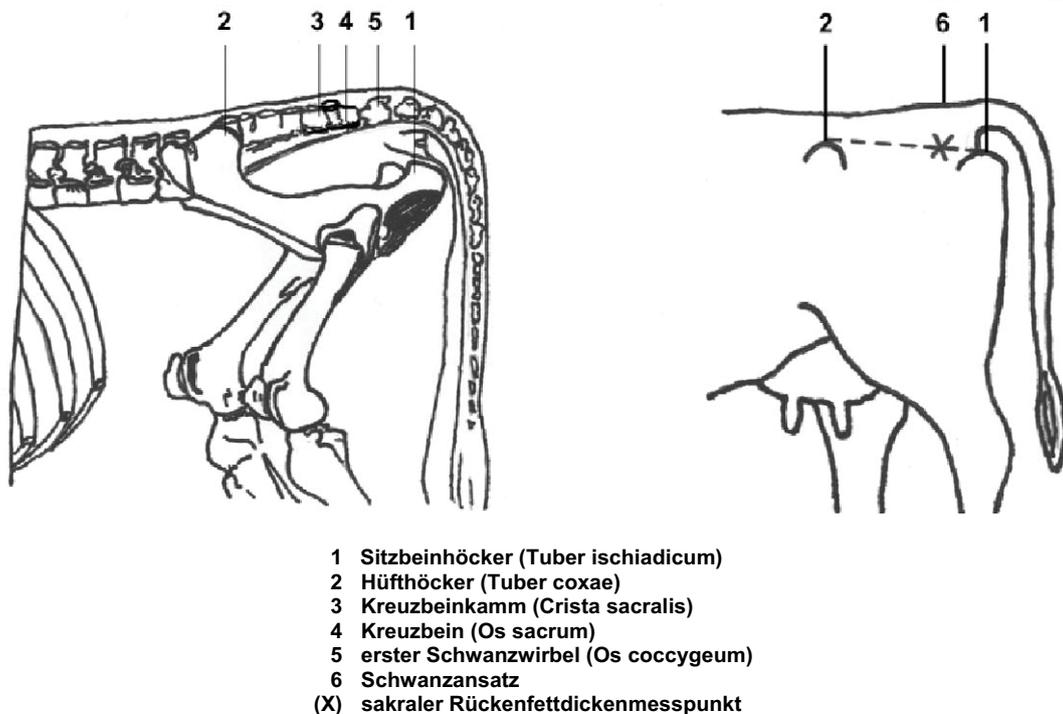
<sup>a</sup>bezogen auf die Originalsubstanz

<sup>b</sup>bezogen auf die Trockensubstanz

### 3.4 Tierexperimenteller Teil

#### 3.4.1 Rückenfettdicke

Die Rückenfettdicke wurde mittels ultrasonographischer Messung (STAUFENBIEL 1992; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004a; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006) erfasst. Eingesetzt wurde dazu ein Ultraschallgerät, HS 120 HONDA ELECTRONICS® (HONDA ELECTRONICS Co., Oiwacho, Japan), welches mit einem 5 MHz-Linearschallkopf ausgestattet war. Als Koppelmedium diente Ethanol (STAUFENBIEL 1992). Die Messung erfolgte an dem in der Abbildung 8 dargestellten, sakralen Messpunkt (STAUFENBIEL 1992; SCHRÖDER und STAUFENBIEL 2006).



- 1 Sitzbeinhöcker (Tuber ischiadicum)
- 2 Hüfthöcker (Tuber coxae)
- 3 Kreuzbeinkamm (Crista sacralis)
- 4 Kreuzbein (Os sacrum)
- 5 erster Schwanzwirbel (Os coccygeum)
- 6 Schwanzansatz
- (X) sakraler Rückenfettdickenmesspunkt

**Abb. 8:** Topographie des sakralen Rückenfettdickenmesspunktes (STAUFENBIEL 1992)

Bei der Messung wurde die Strecke von der Cutis bis zur Fascia profunda ermittelt und als RFD in mm ausgewiesen. Dabei ist zu beachten, dass die Messung am sakralen Messpunkt die Dicke der Cutis von etwa 3,0 - 5,0 mm mit einschließt (STAUFENBIEL 1992), der absolute Betrag der subkutanen Fettschicht also um diesen Betrag geringer ist.

### 3.4.2 Lebendmasse

Die Lebendmasse der Probanden wurde mittels eines stationären Wiegesystems FX1 (TEXAS TRADING GmbH, Windach, Deutschland), welches die Tiere im Ausgangsbereich des Melkstandes durchliefen, erfasst.

### 3.4.3 Futteraufnahme

Die individuelle Futteraufnahme wurde täglich an Einzeltierfressplätzen mittels Wiegetrögen, die mit einer elektronischen Tiererkennung ausgestattet waren, ermittelt. Jeder Einzeltierfressplatz mit Wiegetrog verfügte über ein programmierbares Zugangstor. Bei den Einzeltierfressplätzen handelt es sich um eine Entwicklung des Institutes für Landtechnik und Tierhaltung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft. Die elektronische Tiererkennung erfolgte mit Hilfe eines Ohr-Responders, mit dem jeder Proband während des Versuches ausgestattet war. Bei der Verarbeitung der Wägedaten sowie der Berechnung der Trockensubstanz- und Energieaufnahme wurden mit einer Software, welche ebenfalls im Institut für Landtechnik und Tierhaltung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft entwickelt wurde, gearbeitet.

Die Messung der individuellen Futteraufnahme an den Einzeltierfressplätzen erfolgte auf Basis der Originalsubstanz der Diät. Automatisch wurde durch die Auswertungssoftware anhand der bekannten, relativen Anteile der Rationskomponenten an der Gesamtration und deren individuellen Trockensubstanzgehalten, die tierindividuelle Trockensubstanzaufnahme ermittelt. Bei den Werten der Trockensubstanzaufnahme zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Tabelle 1) handelt es sich jeweils um Wochenmittelwerte, welche als arithmetisches Mittel aus den Werten sieben aufeinander folgender Tage berechnet wurden. Um bei den Berechnungen mögliche Veränderungen des Trockensubstanz-, Roh Nährstoff- und damit des Energiegehaltes einzelner Rationskomponenten während des Untersuchungsverlaufs berücksichtigen zu können, wurden in vorgegebenen Zeitintervallen Trockensubstanz-, Roh Nährstoff- und Energiegehalt der Einzelkomponenten bestimmt. Der Trockensubstanzgehalt der Silagen wurde täglich, der der übrigen Rationskomponenten wöchentlich mittels

Differenzwägung vor und nach vollständiger Trocknung bei 105 °C in einem Trockenschrank MEMMERT UL 80 (MEMMERT, Schwabach, Deutschland) bestimmt. Der zur Ermittlung des Energiegehaltes der Silagen erforderliche Rohnährstoffgehalt wurde ebenfalls wöchentlich, der der anderen Rationskomponenten monatlich mittels vollständiger Weender-Futtermittelanalyse (NAUMANN und BASLER 2000) analysiert. Zur täglichen Bestimmung der Trockensubstanz- und Energieaufnahme wurde stets mit den aktuellen Gehaltswerten gerechnet.

#### 3.4.4 Milchleistung

Die Milchleistung der Probanden wurde als fettkorrigierte Milchmenge (FCM), ergänzt durch den wöchentlich bestimmten Milchfett-, Milcheiweiß-, sowie Laktosegehalt, angegeben. Bei der FCM handelt es sich jeweils um Wochenmittelwerte, welche als arithmetische Mittelwerte aus den Werten von sieben aufeinander folgenden Tagen berechnet wurden. Die tägliche, auf 4 % Milchfettgehalt korrigierte Milchmenge (**FCM**) wurde dafür mit Hilfe folgender Berechnungsformel ermittelt:

$$\mathbf{FCM} \text{ [kg/d]} = (\mathbf{M} \text{ [kg/d]} \times 0,4) + (\mathbf{M} \text{ [kg/d]} \times \mathbf{F} \text{ [\%]} \times 0,15)$$

Dabei steht **M** für die Milchmenge (absolut) und **F** für den Milchfettgehalt. Die Milchmenge wurde täglich als kumulatives Ergebnis der drei Melkungen ermittelt.

#### 3.4.5 Energiebilanz

Die im Untersuchungszeitraum (Tabelle 1) ermittelte Energiebilanz entspricht der auf der Netto Energie für die Laktation (NEL) basierenden Differenz zwischen der täglich aufgenommenen Energiemenge und dem energetischen Bedarf für Erhaltung und Milchsekretion. Der Erhaltungsbedarf (**EB**) wurde mit Hilfe folgender Berechnungsformel ermittelt:

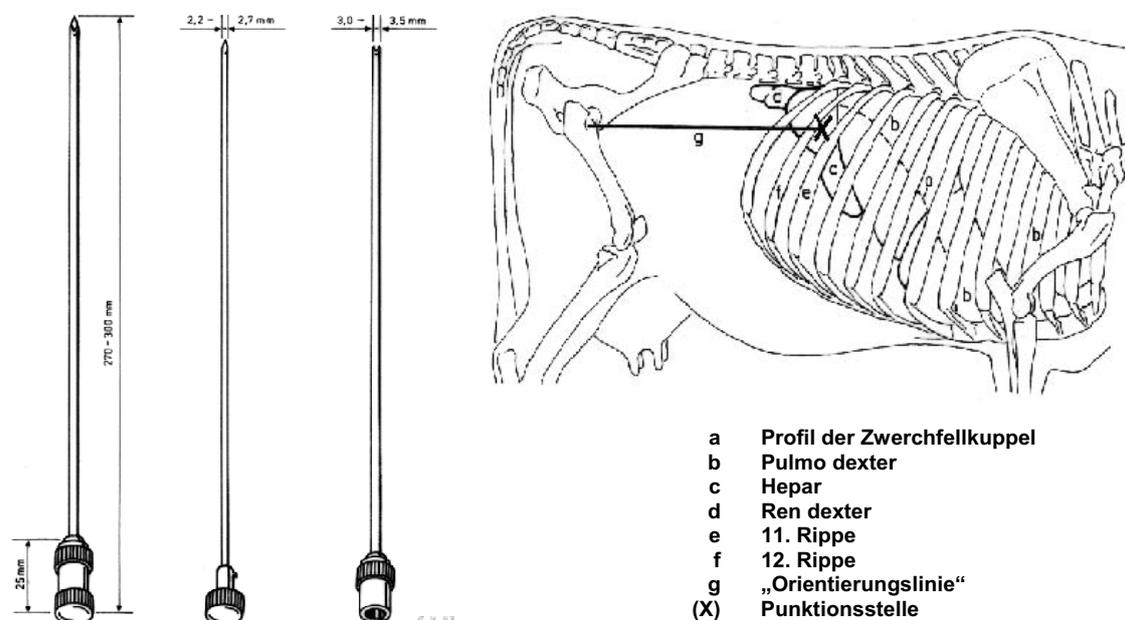
$$\mathbf{EB} \text{ [MJ NEL/d]} = 0,29293 \times \mathbf{KG}^{0,75} \text{ [kg]},$$

wobei **KG<sup>0,75</sup>** dem metabolischen Körpergewicht entspricht (KIRCHGESSNER 1992). Der Energiebedarf je Kilogramm fettkorrigierte Milch wurde mit 3,17 MJ NEL veranschlagt.

### 3.4.6 Leberbiopsie

Zur Gewinnung der Leberbioptate wurden die Tiere im „Fress-Fanggitter“ fixiert. Die Biopsie erfolgte mittels einer Biopsienadel „Berliner Modell“ der Firma EICKEMEYER® (EICKEMEYER® Medizintechnik für Tierärzte, Tuttlingen, Deutschland) nach der bei GRÖHN et al. (1982) beschriebenen Methode von GRÖHN und LINDBERG. Die Entnahme des Bioptates erfolgte auf der rechten Seite des Probanden, eine Hand breit unterhalb einer gedachten, waagerechten Linie durch den Tuberculus coxae im 11. Intercostalraum.

Die Abbildung 9 zeigt die Topographie der Punktionsstelle sowie die verwendete Biopsienadel „Berliner Modell“:



**Abb. 9:** Leberbiopsienadel „Berliner Modell“ und Topographie der Punktionsstelle

An der Punktionsstelle wurde ein ca. 3 x 5 cm großer Bereich rasiert, mit Ethanol entfettet und anschließend mit Jodlösung desinfiziert. Zur oberflächlichen Schmerzausschaltung wurde die Haut mit dem HISTOFREEZER® (BRAUN, Melsungen, Deutschland) vereist. Anschließend wurde die Kutis mit einem Skalpellstich auf ca. 1 cm durchtrennt. Trokar und Hohladel wurden zunächst ruckartig senkrecht zur Körperoberfläche etwa bis zur Hälfte in das Abdomen eingeführt und anschließend in Richtung des

gegenüberliegenden Ellenbogengelenks vorgeschoben. Sobald sich Trokar und Hohnadel in der Leber befanden, wurde der Trokar entnommen und die Hohnadel mehrmals (sechs- bis achtmal) vorgeschoben und zurückgezogen. Beim Zurückziehen wird die Öffnung der Nadel mit dem handschuhgeschützten Finger verschlossen, um das Lebergewebe in der Nadel zu halten. 100 - 250 mg Lebergewebe konnten so jeweils gewonnen werden. Zur lokalen Wundversorgung wurde ALU-SPRAY® (SELECTAVET, Weyarn-Holzolling, Deutschland) verwendet. Etwa die halbe Menge des Bioplates wurde unmittelbar nach Beendigung der Biopsie in einem 1,5 ml SARSTEDT 370-465 Reaktionsgefäß (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) bei -18°C eingelagert. Die restliche Menge wurde in ein 1,2 ml fassendes Kryoröhrchen CRYOVIAL® E290.1 (CARL ROTH GmbH + Co, Karlsruhe, Deutschland) gegeben und in flüssigem Stickstoff bei -196°C archiviert.

#### **3.4.7 Blutentnahme**

Die Blutentnahme erfolgte jeweils in der Zeit zwischen 6.00 - 8.00 Uhr. Den Probanden wurde aus der Vena coccygea mit einer 9 ml MONOVETTE Z 371-385 (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) Blut für die Serumgewinnung bzw. mit einer 9 ml MONOVETTE LH 371-394 (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) Blut für die Plasmagewinnung entnommen. Bei der Blutentnahme wurde streng auf die Vermeidung von Hämolyse geachtet (sanftes Abfließen des Blutes an der Gefäßwand).

#### **3.4.8 Milchproben**

Zur Bestimmung des Milchprogesterongehaltes wurden von den Probanden Proben aus dem Endgemelk gewonnen. Die Beprobung erfolgte tierindividuell im exakten 7-Tage-Rhythmus. Während der ersten Probenentnahme befanden sich die Tiere zwischen dem 15. und 21. Laktationstag, bei der letzten Probenentnahme zwischen dem 50. und 56. Laktationstag. Als Probe wurden aus einem beliebigen Euterviertel 5 ml des Endgemelks in ein 5 ml Probenröhrchen RATILABO® 5866.1 (CARL ROTH GmbH + Co, Karlsruhe,

Deutschland) gemolken. Innerhalb einer Stunde nach der Probengewinnung wurden die Probengefäße bei  $-18^{\circ}\text{C}$  archiviert.

### **3.5 Laboranalytischer Teil**

#### **3.5.1 Milchinhaltstoffe**

Die Milchinhaltstoffe wurden im Labor des Zentrums für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden bestimmt. Zur Analyse des Fett-, Eiweiß- bzw. Laktosegehaltes wurde ein Infrarot-Milchanalysegerät MILKO-SCAN 133B (N.FOSS ELECTRIC, Hillerød, Dänemark) verwendet. Das Gerät war für die Fettbestimmung in Anlehnung an das Ergebnis der MilCHFettbestimmung nach GERBER (ISO 2446, DIN 10310) geeicht. Der Eichung des Gerätes zur Bestimmung des Eiweißgehaltes lag die Milcheiweißbestimmung über die Ermittlung des Gesamtstickstoffgehaltes nach KJELDAHL (DIN EN ISO 8968) zugrunde. Die analytische Genauigkeit wurde in dreiwöchigem Abstand anhand einer „Testmilch“ mit bekannten Inhaltsstoffen aus dem Labor des Landeskontrollverbandes (LKV) Sachsen-Anhalt e.V. überprüft.

#### **3.5.2 Aufbereitung und Archivierung der Blutproben**

Die Aufbereitung und Archivierung der Blutproben erfolgte im Labor des Zentrums für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden. Im Anschluss an die Blutentnahme wurden die Plasmaröhrchen unmittelbar, die Serumröhrchen nach einer zweistündigen Ruhelagerung bei Zimmertemperatur in einer Zentrifuge UNIVERSAL 16A (HETTICH ZENTRIFUGEN, Tuttlingen, Deutschland) für 10 min bei  $4000\text{ min}^{-1}$  zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand (Serum bzw. Plasma) in 1,5 ml Reaktionsgefäßen SARSTEDT 370-465 (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) überführt und bei einer Temperatur von  $-18^{\circ}\text{C}$  eingelagert.

#### **3.5.3 Stoffwechselmetabolite**

##### **3.5.3.1 Freie Fettsäuren**

Die Serumkonzentration freier Fettsäuren wurden im Labor der Klinik für Kleintiere des Fachbereiches Veterinärmedizin an der Freien Universität

Berlin mittels eines optimierten, enzymatischen Farbtests (Testkit FA 115, RANDOX LABORATORIES, Crumlin, UK) im AUTOMATIC ANALYZER HITACHI 704 (HITACHI, Tokyo, Japan) ermittelt.

### **3.5.3.2 Betahydroxybutyrat**

Die Bestimmung der Serumkonzentration von Betahydroxybutyrat erfolgte ebenfalls im Labor der Klinik für Kleintiere des Fachbereiches Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Die Konzentration wurde mit Hilfe der bei DARGEL (1987) beschriebenen, enzymatischen Methode unter Verwendung des Testkits RB 1007 (RANDOX LABORATORIES, Crumlin, UK) im AUTOMATIC ANALYZER HITACHI 704 (HITACHI, Tokyo, Japan) gemessen.

### **3.5.3.3 Glucose**

Die Bestimmung der Glucosekonzentration erfolgte im Labor des Zentrums für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden. Die Glucosekonzentration wurde im Serum reflexionsphotometrisch mit einem REFLOVET® Plus (ROCHE DIAGNOSTICS GmbH, Mannheim, Deutschland) unter Verwendung des Testkits REFLOTRON® Glucose REF 10744948 (ROCHE DIAGNOSTICS GmbH, Mannheim, Deutschland) bestimmt.

### **3.5.4 Hormone**

Die quantitativen Hormonanalysen wurden im Labor des Forschungsbereiches Fortpflanzungsbiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf durchgeführt. Die bei der Bestimmung der verschiedenen Hormone verwendeten Assays, Testkits sowie die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten sind in der Tabelle 3 aufgeführt.

#### **3.5.4.1 Insulin, Glucagon und Leptin**

Die quantitativen Analysen der Plasmakonzentrationen von Insulin, Glucagon und Leptin wurden jeweils mittels kompetitiver Radioimmunoassays (RIA) nach

den Vorschriften des Herstellers LINCO durchgeführt (Tabelle 3). Bei diesen Methoden wird die hohe Spezifität und Bindungsstärke bei der Bindung von Antigen (Hormon) und, im Kaninchen erzeugten, Antikörper ausgenutzt. Beim kompetitiven RIA verdrängt ein mit  $^{125}\text{I}$  markiertes Hormon das nichtmarkierte teilweise aus seiner Bindung, so dass beispielsweise bei einer niedrigen Hormonkonzentration in der Probe nur wenig "kaltes" Hormon, jedoch viel markiertes Hormon antikörper-gebunden vorliegt. Die  $^{125}\text{I}$ -Messung erfolgte mittels Gamma-Counter mit integrierter RIA-Auswertungssoftware (Multi-crystal LB 2104, BERTHOLD, Bad Wildbad, Deutschland).

#### **3.5.4.2 Insulin-like growth-factor-1**

Die quantitative Analyse von Insulin-like growth factor-1 (IGF1) im Blutplasma erfolgte mittels immuno-radiometrischem Assay (IRMA) nach vorheriger Abspaltung der IGF-1-Bindungsproteine durch Fällung mit salzsaurem Ethanol (IGF1) entsprechend der Vorschrift des Herstellers DSL (Tabelle 3). Beim IRMA werden zwei verschiedene Antikörper verwendet, von denen einer als feste Phase an einer Kugel gebunden vorliegt und der andere mit  $^{125}\text{I}$  markiert ist. Die beiden Antikörper bilden zusammen mit dem Antigen (IGF-1) einen „Sandwich“-Komplex, so dass beispielsweise hohe IGF-1-Konzentrationen viel Radioaktivität binden. Die Aktivität wird ebenfalls mittels Gamma-Counter und integrierter RIA-Auswertungssoftware im Multi-crystal ermittelt.

#### **3.5.4.3 Progesteron**

Die quantitative Bestimmung des Progesterongehaltes in den Nachgemelksproben wurde nach vorheriger Extraktion mit Ethanol (Riedel de Haen, Seelze, Deutschland) mit einem kompetitiven RIA durchgeführt (Tabelle 3). Bei dieser Methode wird als Radionuklid Tritium ( $^3\text{H}$ ) zur Markierung des Antigens verwendet. Die Betastrahlung wird in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (2900TR, PERKIN ELMER, Überlingen, Deutschland) mit integrierter Software für die RIA-Berechnung gemessen.

**Tab. 3: Assays, Testkits sowie Assay-Variationskoeffizienten der Hormonanalysen in Blut und Milch**

Parameter	Assay, Testkit	V <sub>intra</sub> % <sup>a</sup>	V <sub>inter</sub> % <sup>b</sup>
Insulin	<sup>125</sup> I-RIA, PI-12K, LINCO RESEARCH, USA	8,2	4,3
Glucagon	<sup>125</sup> I-RIA, GL-32M, LINCO RESEARCH, USA	9,6	5,8
Leptin	<sup>125</sup> I-RIA, XL-85K, LINCO RESEARCH, USA	9,1	5,4
IGF-1	IRMA, DSL-5600 Aktive IGF-I, Diagnostic Systems Laboratories, Webster, USA	7,7	3,9
Progesteron	<sup>3</sup> H-RIA, eigene Methode des FBN-Dummerstorf (s. Kapitel 3.5.4.3)	9,4	7,7

<sup>a</sup>Intraassay-Variationskoeffizient, ermittelt in Vielfachbestimmungen in einem Test

<sup>b</sup>Interassay-Variationskoeffizient, ermittelt in wiederholten Bestimmungen in mehreren Tests

### 3.5.5 Leberparameter

#### 3.5.5.1 Fettgehalt

Die Bestimmung des Gesamtlipidgehaltes im Lebergewebe wurde im Labor der Klinik für Klautiere der Freien Universität Berlin mittels des bei AHMED (2004) beschriebenen, gravimetrischen Verfahrens durchgeführt.

Dabei werden 100 mg Lebergewebe (Originalmasse) zusammen mit 1 ml tissue lysis buffer (QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland) homogenisiert und über Nacht in einem auf 55°C temperierten Wasserbad inkubiert.

Am nächsten Tag wird mit Hilfe eines bei VEENHUIZEN et al. (1991) beschriebenen Chloroform-Methanol-Wasser-Systems das gesamte Fett aus dem Homogenisat extrahiert. Das Chloroform-Methanol Gemisch besteht dabei aus zwei Teilen Chloroform (MERCK® KgaA, Darmstadt, Deutschland) und einem Teil Methanol (MERCK® KgaA, Darmstadt, Deutschland) [2 vol : 1 vol]. Dazu werden 3 ml des Gemisches dem Homogenisat zugegeben und anschließend für 30 min in einem Kühlschrank inkubiert. Die anschließende zehnminütige Zentrifugation bei 5000 min<sup>-1</sup> führt zur Ausbildung von zwei Schichten im Reagenzglas.

Die obere Schicht besteht aus dem Methanol, während sich in der unteren Schicht das Chloroform mit dem gesamten Fett befindet. Die Chloroformschicht wird abgesaugt und in ein Verdampfungsglasschälchen mit bekannter Masse verbracht. Unter einem Abzug wird das Chloroform anschließend auf einer Heizplatte bei 50 °C verdunstet. Der verbleibende Rest wird noch zweimal mit je

1 ml reinem Chloroform gewaschen, erneut zentrifugiert und das Procedere bis zur Verdunstung des Chloroforms wiederholt. Das in der Schale verbleibende Fett wird gewogen und anschließend sein Anteil am Lebergewebe rechnerisch bestimmt.

### **3.5.5.2 Glykogengehalt**

Der Glykogengehalt im Lebergewebe wurde im Labor des Forschungsbereiches Ernährungsphysiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf nach Aufbereitung mittels eines Testkits (Nr. 207748, ROCHE DIAGNOSTICS GmbH, Mannheim, Deutschland) mit einem Spektralphotometer SPECTRONIC GENESYS 20 (THERMO ELECTRON, Dreieich, Deutschland) bestimmt.

Dabei wird das im Bioplat enthaltenes Glykogen mit Hilfe des Enzyms Amyloglucosidase hydrolytisch zu D-Glucose gespalten. Die D-Glucose wird mit Adenosin-5'-triphosphat (ATP) in Gegenwart des Enzyms Hexokinase zu D-Glucose-6-phosphat phosphoryliert, wobei gleichzeitig Adenosin-5'-diphosphat (ADP) entsteht.

D-Glucose-6-phosphat wird anschließend von Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) in Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-dehydrogenase zu D-Gluconat-6-phosphat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) oxidiert. Die bei der Reaktion gebildete NADPH-Menge ist zu der bei der Hydrolyse des Glycogens entstehenden D-Glucose-Menge proportional und konnte bei einer Wellenlänge von 340 nm mittels Spektralphotometer quantifiziert werden.

### **3.6 Quantitative mRNA-Analysen**

Die Analysen wurden im Labor des Forschungsbereiches Ernährungsphysiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf durchgeführt.

Dabei wurden die im Lebergewebe für die Enzyme Pyruvatcarboxylase (PC; EC 6.4.1.1), cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-C; EC 4.1.1.32), mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-M; EC

4.1.1.32) sowie Glucose-6-phosphatase (G6Pase; EC 3.1.3.9) exprimierten mRNA-Mengen mittels Real time Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (Real time (RT)-PCR) quantifiziert.

Zunächst wurde die RNA mit Hilfe von TRIzol (INVITROGEN, Karlsruhe, Deutschland) und „RNase-freiem Wasser“, welches mit Diethylpyrocarbonat (DEPC, Sigma-Aldrich, Deisendorf, Deutschland) versetzt war, extrahiert. Vollständigkeit und Reinheit des RNA-Extraktes wurden durch die Messung der optischen Dichte (größer 1,9 bei 260 nm und 280 nm) sowie mittels Gel-Elektrophorese mit Ethidiumbromid-Färbung kontrolliert. Anschließend wurde die RNA, wie bei HAMMON et al. (2003) beschrieben, mit Hilfe des random primers (Random Primer, INVITROGEN, Karlsruhe, Deutschland) in eine komplementäre cDNA umgeschrieben. Die anschließende Real time (RT)-PCR wurde im Light Cycler (ROCHE DIAGNOSTICS GmbH, Mannheim, Deutschland) unter Verwendung des Fluoreszenzfarbstoffes SYBR Green I (HAMMON et al. 2003) durchgeführt. Bei den PCRs wurden für PC, PEPCK-M, PEPCK-C, G6Pase sowie Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) die in der Tabelle 4 aufgeführten Primer verwendet.

**Tab. 4: Verwendete Primer**

Primer	Primer Sequenz 5'→3'	Code Sequenz	Länge	NCBI <sup>a</sup> Nummer
PC-for <sup>b,g</sup> PC-rev <sup>h</sup>	ACA CCA ACT ACC CCC ACA ATG CAG CGG GAG GTC AGG GAA G	2020 - 2040 2354 - 2372	353	AY185595
PEPCK-M-for <sup>c</sup> PEPCK-M-rev	TAT GAG GCC TTC AAC TGG CGC AGA TCC AAG GCG CCT TCC TTA	1490 - 1510 1834 - 1854	365	XM_583200
PEPCK-C-for <sup>d</sup> PEPCK-C-rev	CTC AGC TGG CAG CAC GGT GTG TGC TCC TGG TGC GTT GTA TGG	1480 - 1500 2037 - 2057	578	AY145503
G6Pase-for <sup>e</sup> G6Pase-rev	ATG TTG TGG TTG GGA TTC TGG CAC CTT CGC TTG GCT TTC TC	527 - 547 782 - 801	275	BC114011
GAPDH-for <sup>f</sup> GAPDH-rev	TAC ATG GTC TAC ATG TTC CAG TAT G CAG TCT TCT GGG TGG CAG TGA TG	190 - 214 606 - 628	439	NM 001034034

<sup>a</sup>NCBI: National Center for Biotechnology Information

<sup>b</sup>PC: Pyruvatcarboxylase

<sup>c</sup>PEPCK-M: mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase

<sup>d</sup>PEPCK-C: cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase

<sup>e</sup>G6Pase: Glucose-6-Phosphatase

<sup>f</sup>GAPDH: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

<sup>g</sup>for: vorwärts

<sup>h</sup>rev: rückwärts

Zur Quantifizierung der mRNA für PC, PEPCK-M, PEPCK-C sowie G6Pase wurde jeweils die relative Expression gegenüber der GAPDH, die als „housekeeping gene“ (Referenzgentranskript) verwendet wurde, ermittelt (PFAFFL 2001; Hammon et al. 2003; SCHEUER et al. 2006).

Es handelt sich dabei um ein Verfahren zur relativen Quantifizierung, bei dem die in einer Probe enthaltene mRNA- bzw. cDNA-Menge für ein Zielgen als Expressionsunterschied (Ratio) gegenüber einem nicht-regulierten Referenzgen normalisiert wird. Dazu wird zunächst, wie bei HAMMON et al. (2003) beschrieben, für jedes Zielgen (PC, PEPCK-M, PEPCK-C sowie G6Pase) und die GAPDH der „crossing point“ (CP) ermittelt und unter Verwendung eines internen Standards für verschiedene „runs“ (jeweils 3 runs pro Probe) korrigiert ( $\Delta CP = CP_{\text{Zielgen}} - CP_{\text{Kontrolle}}$ ). Im Anschluss an die „Normalisierung“ werden die  $\Delta CP$ -Werte der GAPDH vom  $\Delta CP$ -Wert jedes Zielgens subtrahiert ( $\Delta\Delta CP = \Delta CP_{\text{Zielgen}} - \Delta CP_{\text{GAPDH}}$ ). Der relative Expressionsunterschied (Ratio) zwischen dem jeweiligen Zielgen und dem Referenzgen wird anhand der arithmetischen Formel:  $Ratio = 2^{-\Delta\Delta CP}$  ermittelt. Die Verwendung des Logarithmus basiert auf einer optimalen Effizienz der PCR von  $E = 2$  und damit einer Verdopplung der DNA in jedem PCR-Zyklus.

### 3.7 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation

Das Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion wurde anhand der lutealen Aktivität überwacht, wobei davon ausgegangen wurde, dass der ersten lutealen Aktivität eine erste Ovulation vorausgegangen ist und die Ovarien damit ihre Funktionsfähigkeit wiedererlangt haben (PUSHPAKUMARA et al. 2003; PETERSSON et al. 2006; WINDIG et al. 2008). Die Überwachung der lutealen Aktivität erfolgte anhand tierindividueller Verlaufsprofile der im Endgemelk ermittelten Milchprogesteronkonzentration. Dazu wurde ab der 3. Woche p.p. im 7-tägigen Intervall mit Hilfe der Milchprogesteronkonzentration der funktionale Zustand des Luteingewebes beurteilt (Anhang, Tabelle A2).

Bei einer Progesteronkonzentration geringer 5,0 ng/ml wurde der Zustand des C.I. als „inaktiv“ beurteilt. Lag die Konzentration bei 5,0 ng/ml bzw. oberhalb dieses Wertes, wurde der Zustand des Corpus luteum als „aktiv“ bewertet

(NEBEL et al. 1987; SPRECHER et al. 1988; LING et al. 2004; SAMARÜTEL et al. 2004,2008; MANN et al. 2005; WINDIG et al. 2008). Der Zeitpunkt, an dem erstmalig nach dem Partus ein aktives Corpus luteum auftrat, markierte die Wiederaufnahme der Ovarfunktion des Probanden.

Um in den Untersuchungsgruppen einen möglichen Unterschied hinsichtlich des Zeitpunktes des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion identifizieren zu können, wurden die Probanden entsprechend des Auftretens der ersten lutealen Aktivität in zwei Klassen eingeteilt. Wurde die erste luteale Aktivität bis zum 28. Tag p.p. festgestellt, erfolgte die Einordnung in die Klasse FRÜH. Entsprechend erfolgte eine Einordnung in die Klasse SPÄTER, wenn die erste luteale Aktivität zu einem Zeitpunkt ab dem 35. Tag p.p. festgestellt wurde. Die Klassenbesetzung in den Gruppen wurde mittels Häufigkeitsanalyse untersucht.

### **3.8 Statistische Auswertung**

Alle statistischen Analysen wurden mit dem SAS (Statistical-Analysis-System) des Statistikpaketes für Windows, Version 9.1.3 (SAS INSTITUTE INC. 2004) durchgeführt.

Sämtliche Daten der zotechnischen Parameter, der Serum- bzw. Plasmakonzentrationen der Metabolite und Hormone sowie der Leberparameter wurden, da eine Normalverteilung vorausgesetzt werden konnte, varianzanalytisch (ANOVA) mit den RANDOM und REPEATED Methoden der MIXED-Prozedur des SAS untersucht.

In das verwendete, statistische Model wurden [GRUPPE], [TAG], [GRUPPE × TAG] sowie [LAKTATION] als fixe Effekte und [KUH] als zufälliger Effekt einbezogen, wobei [GRUPPE] für die Gruppierung (hoher bzw. niedriger LFG), [TAG] für die einzelnen Probennahmezeitpunkte im Untersuchungszeitraum, [LAKTATION] für die Laktationsnummer und [KUH] für das individuelle Tier stehen. Die Mittelwertdifferenzen wurden als LS MEANS mit einem multiplen Mittelwertvergleich nach *Tukey-Kramer* auf Signifikanz getestet.

Die Untersuchung der Klassenbesetzung der lutealen Aktivität in den Untersuchungsgruppen erfolgte, da keine Normalverteilung vorlag, mittels

Häufigkeitsanalyse. Die Häufigkeiten wurden mittels  $\chi^2$  (Chi-Quadrat-Test) sowie Fisher's Exact Test untersucht.

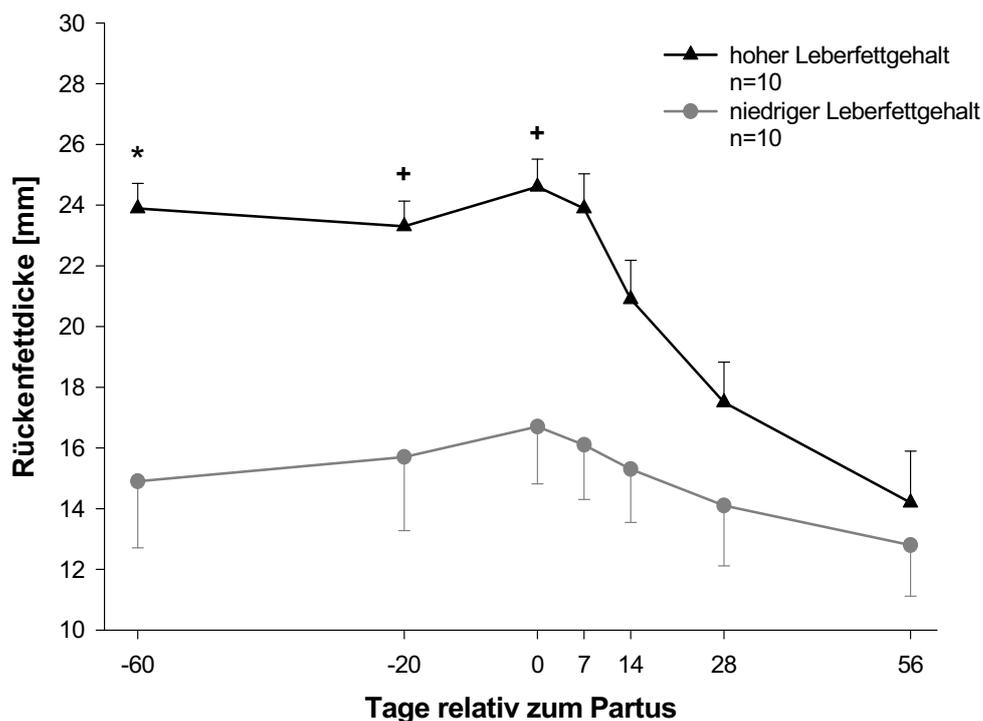
Für die statistischen Analysen wurde ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  festgelegt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p > 0,05$  aber  $\leq 0,1$  wurde von einem Trend bzw. einer Tendenz gesprochen. Die Darstellung der Ergebnisse in den Grafiken erfolgte jeweils als arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) unter Angabe des jeweiligen Standardfehlers SEM (standard error of the mean). Darüber hinaus wurden jeweils die p-Werte für die in das statistische Analysemodell einbezogenen Effekte angegeben.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Rückenfettdicke

Zur Einschätzung der Körperkondition der Probanden wurde im Zeitraum zwischen dem Trockenstellen und dem 56. Tag p.p. die Rückenfettdicke gemessen.

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere Rückenfettdicke in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p < 0,05$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 10). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde insbesondere am 60. Tag a.p. eine signifikant größere ( $p < 0,05$ ), am 20. Tag a.p. sowie zum Partus eine tendenziell größere ( $p < 0,1$ ) mittlere Rückenfettdicke festgestellt.



**Abb. 10:**

**Mittlere Rückenfettdicke ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 60. Tag a.p. - 56. Tag p.p.**

Effekte: (Gruppe:  $p=0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p=0,56$ )

\*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )

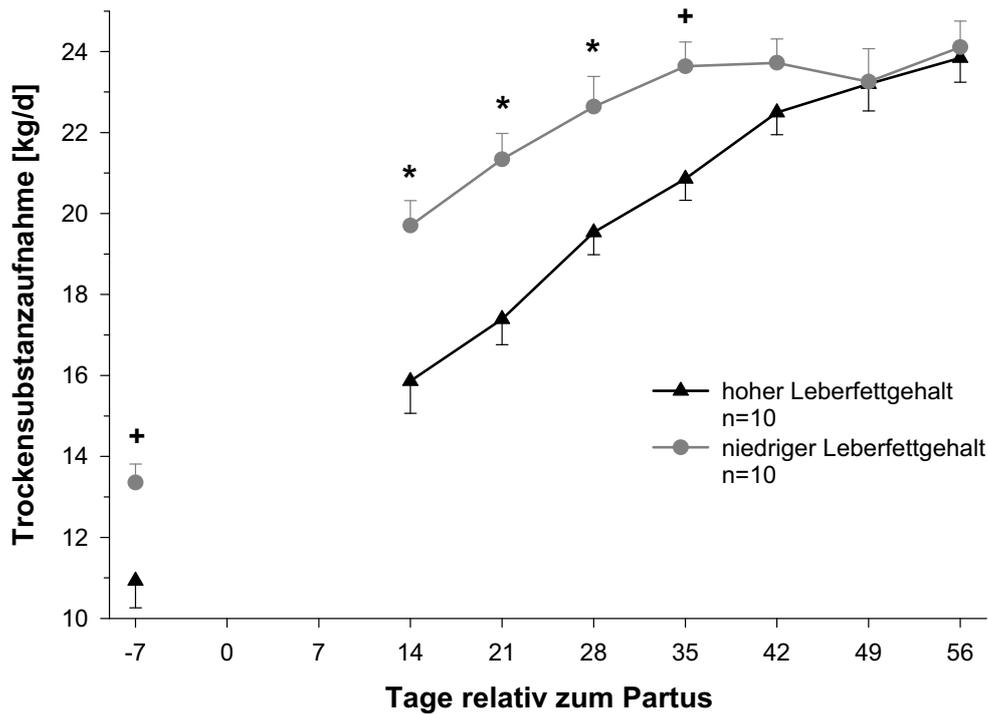
+Zeitpunkt mit tendenzieller Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,1$ )

Zu Beginn der Trockenstehphase, am 60. Tag a.p., betrug die Rückenfettdicke in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt  $23,9 \pm 0,8$  mm, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt  $14,9 \pm 2,2$  mm. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt sank die Rückenfettdicke im Zeitraum zwischen dem Trockenstellen und dem 20. Tag a.p. auf  $23,3 \pm 0,8$  mm ab, bevor sie bis zum Partus auf  $24,6 \pm 0,9$  mm anstieg. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt stieg die Rückenfettdicke während der gesamten Trockenstehphase kontinuierlich an und erreichte zum Partus  $16,7 \pm 1,9$  mm. In beiden Gruppen wurde zum Partus die größte Rückenfettdicke gemessen. Im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 56. Tag p.p. verringerte sich die Rückenfettdicke in beiden Gruppen, wobei der Rückgang in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stärker ausgeprägt war. Die postpartale Rückenfettdickenabnahme betrug in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt im Mittel 10,4 mm, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt im Mittel 3,9 mm. Am 56. Tag p.p. wurde mit  $14,2 \pm 1,7$  mm in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $12,8 \pm 1,7$  mm in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste Rückenfettdicke gemessen.

#### **4.2 Trockensubstanzaufnahme**

Die aufgenommene Futtermenge wurde am 7. Tag a.p. sowie im Zeitraum zwischen dem 14. und 56. Tag p.p., dann jeweils im 7-Tage-Intervall, auf Basis der Trockensubstanz erfasst.

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere Trockensubstanzaufnahme in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt (Abbildung 11). In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt wurde insbesondere am 14., 21. und 28. Tag p.p. eine signifikant höhere ( $p < 0,05$ ), am 7. Tag a.p. sowie am 35. Tag p.p. eine tendenziell höhere ( $p < 0,1$ ) mittlere Trockensubstanzaufnahme festgestellt.



**Abb. 11:** Mittlere Trockensubstanzaufnahme ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 7. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe  $\times$  Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p = 0,25$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )  
 +Zeitpunkt mit tendenzieller Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,1$ )

Am 7. Tag a.p. wurde mit  $10,93 \pm 0,67$  kg in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $13,48 \pm 0,43$  kg in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste TS-Aufnahme gemessen. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stieg die TS-Aufnahme bis zum 56. Tag p.p. auf  $23,84 \pm 0,59$  kg an. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt nahm die TS-Aufnahme bis zum 35. Tag p.p. kontinuierlich bis auf  $23,64 \pm 0,60$  kg zu und blieb anschließend bis zum 56. Tag p.p. auf einem annähernd konstanten Niveau ( $24,11 \pm 0,65$  kg).

### 4.3 Milchleistung

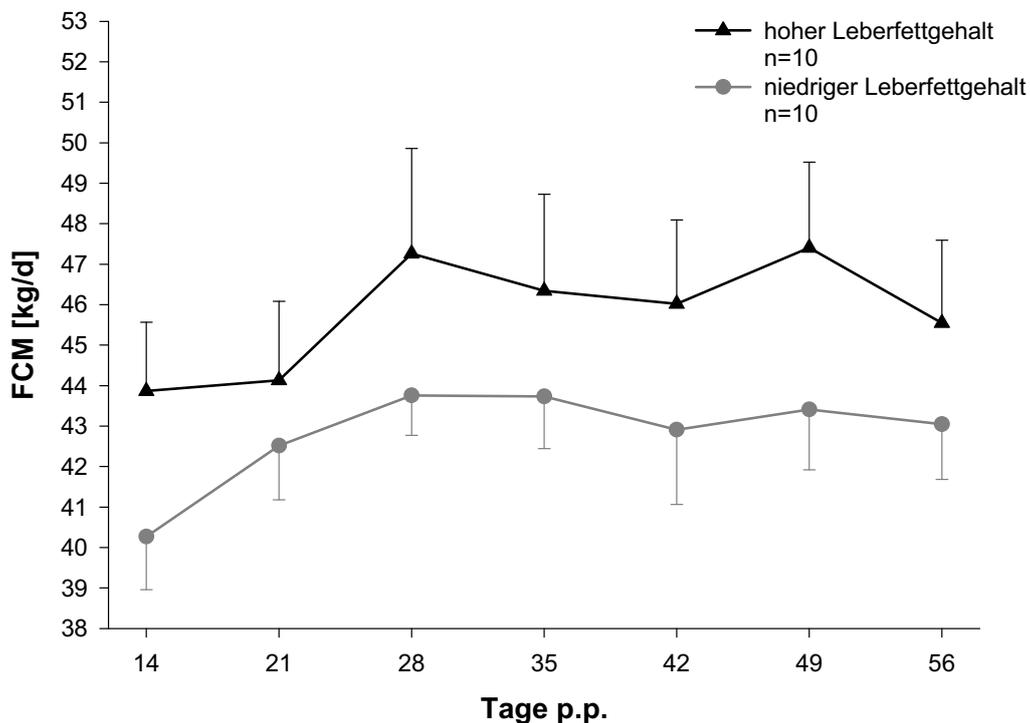
Zur Quantifizierung der Milchleistung der Probanden wurden im Zeitraum zwischen dem 14. und 56. Tag p.p. jeweils im 7-Tage-Intervall die

Milchmengenleistungen anhand der fettkorrigierten Milchmenge (FCM), sowie die Konzentrationen der Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß und Laktose) bestimmt.

### 4.3.1 Milchmengenleistung

#### 4.3.1.1 Fettkorrigierte Milchmenge

Im Untersuchungszeitraum unterschied sich die mittlere fettkorrigierte Milchmenge nicht signifikant ( $p=0,4$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 12).



**Abb. 12:** Mittlere fettkorrigierte Milchmenge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,40$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe×Tag:  $p=0,76$ ; Laktation:  $p=0,90$ )

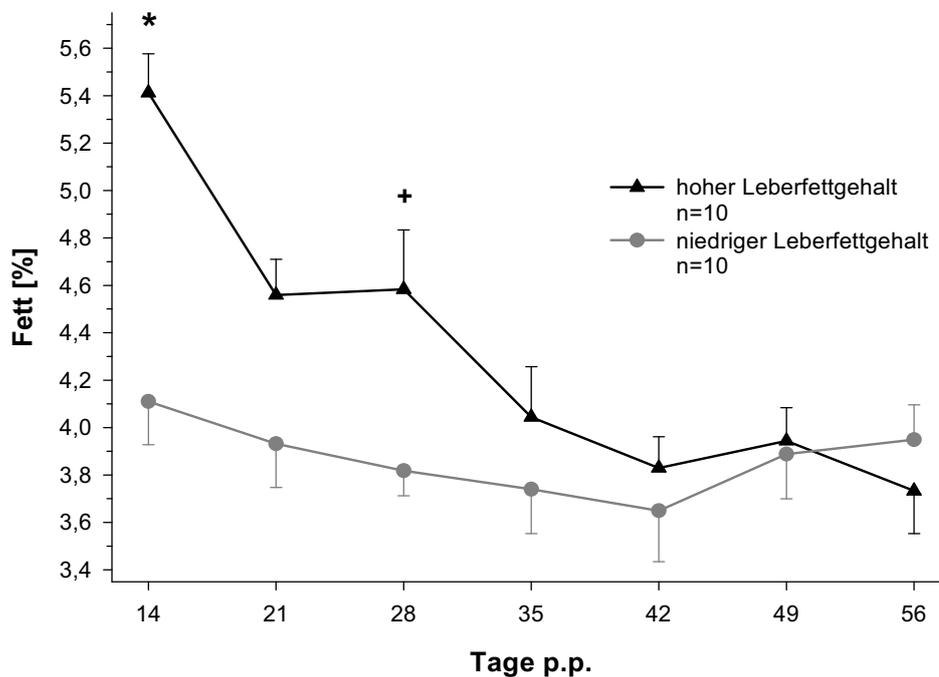
Am 14. Tag p.p. wurde mit  $43,8 \pm 1,7$  kg in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $40,3 \pm 1,3$  kg in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste fettkorrigierte Milchmenge gemessen. Bis zum 28. Tag p.p. stieg die fettkorrigierte Milchmenge in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auf  $47,3 \pm 2,6$  kg, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $43,8 \pm 1,0$  kg an. Im Zeitraum zwischen dem 28. und 56. Tag p.p. nahm die fettkorrigierte Milchmengenleistung, mit Ausnahme eines geringen Anstieges

am 49. Tag p.p. in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt, in beiden Gruppen ab. Am 56. Tag p.p. lag die fettkorrigierte Milchmenge in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bei  $45,5 \pm 2,0$  kg, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $43,0 \pm 1,4$  kg.

### 4.3.2 Milchinhaltstoffe

#### 4.3.2.1 Fett

Im Untersuchungszeitraum war der mittlere Milchfettgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 13). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde insbesondere am 14. Tag p.p. ein signifikant höherer ( $p < 0,01$ ), am 28. Tag p.p. ein tendenziell höherer ( $p = 0,06$ ) mittlerer Fettgehalt festgestellt.



**Abb. 13:** Mittlerer Milchfettgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p.

Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p = 0,18$ )

\*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )

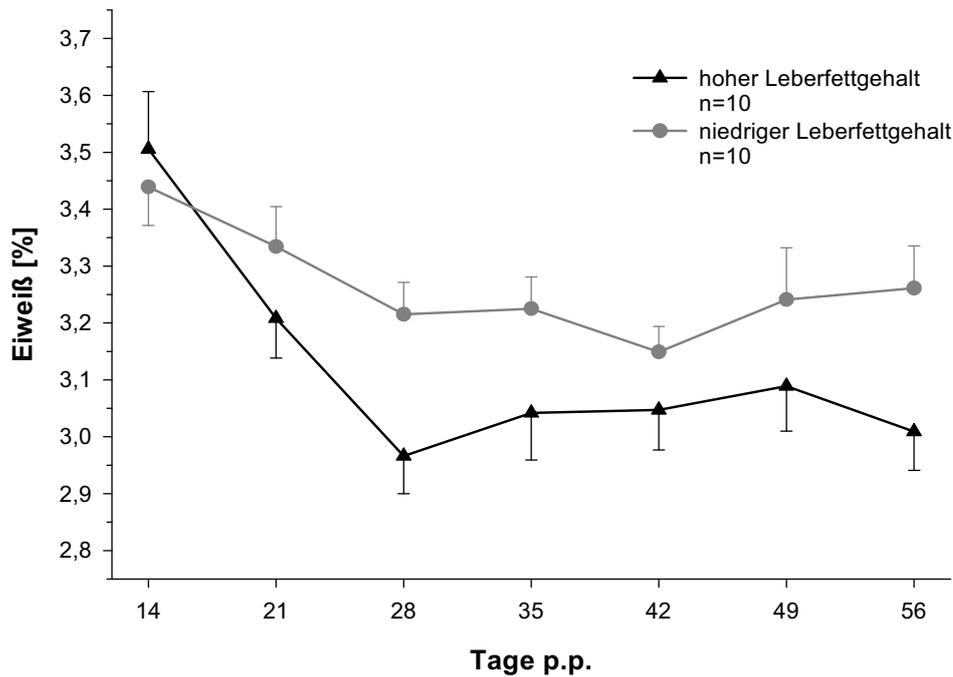
\*Zeitpunkt mit tendenzieller Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,1$ )

Am 14. Tag p.p. hatte die Milch mit  $5,41 \pm 0,16$  % in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $4,11 \pm 0,18$  % in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils den höchsten Fettgehalt. In beiden Gruppen fiel der Milchfettgehalt im Zeitraum zwischen dem 14. und 42. Tag p.p. ab, wobei der Abfall in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stärker als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt ausgeprägt war. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt sank der Milchfettgehalt in diesem Zeitraum auf  $3,83 \pm 0,13$  %, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $3,65 \pm 0,21$  % ab. Im Zeitraum zwischen dem 42. und 56. Tag p.p. fiel der Milchfettgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt, nach einer geringen Zunahme am 49. Tag p.p., auf  $3,73 \pm 0,18$  % ab, während er in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $3,95 \pm 0,15$  % anstieg.

#### **4.3.2.2 Eiweiß**

Der mittlere Milcheiweißgehalt unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,12$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 14).

In beiden Gruppen wurde am 14. Tag p.p. der höchste Milcheiweißgehalt gemessen. Dieser lag in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bei  $3,51 \pm 0,10$  %, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $3,44 \pm 0,07$  %. Bis zum 28. Tag p.p. fiel der Eiweißgehalt in beiden Gruppen kontinuierlich bis auf  $2,97 \pm 0,07$  % in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $3,22 \pm 0,06$  % in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt ab. Im Zeitraum zwischen dem 35. und 56. Tag p.p. blieb der Eiweißgehalt in beiden Gruppen annähernd auf dem jeweiligen Niveau vom 28. Tag p.p. ( $3,01 \pm 0,07$  % bzw.  $3,26 \pm 0,07$  %). Am 56. Tag p.p. lag der Milcheiweißgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bei  $3,01 \pm 0,07$  %, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $3,26 \pm 0,74$  %.

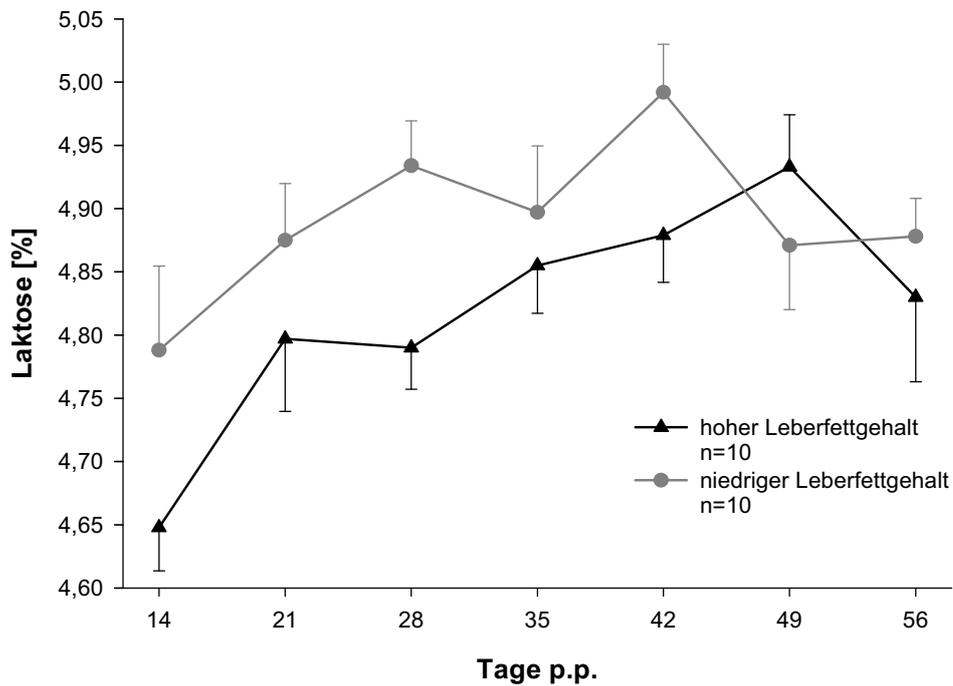


**Abb. 14:** Mittlerer Milcheiweißgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,12$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,20$ ; Laktation:  $p=0,33$ )

#### 4.3.2.3 Laktose

Im Untersuchungszeitraum war der mittlere Laktosegehalt in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p<0,05$ ) als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt (Abbildung 15).

Am 14. Tag p.p. wurde mit  $4,65 \pm 0,03$  % in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $4,79 \pm 0,07$  % in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils der niedrigste Laktosegehalt gemessen. Ab dem 14. Tag p.p. stieg der Laktosegehalt in beiden Gruppen an. Der höchste Laktosegehalt wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt mit  $4,93 \pm 0,04$  % am 49. Tag p.p., in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt mit  $4,99 \pm 0,04$  % am 42. Tag p.p. festgestellt. Nach Erreichen des jeweiligen Maximalwertes fiel der Laktosegehalt bis zum 56. Laktationstag auf  $4,83 \pm 0,07$  % in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $4,88 \pm 0,03$  % in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt ab.

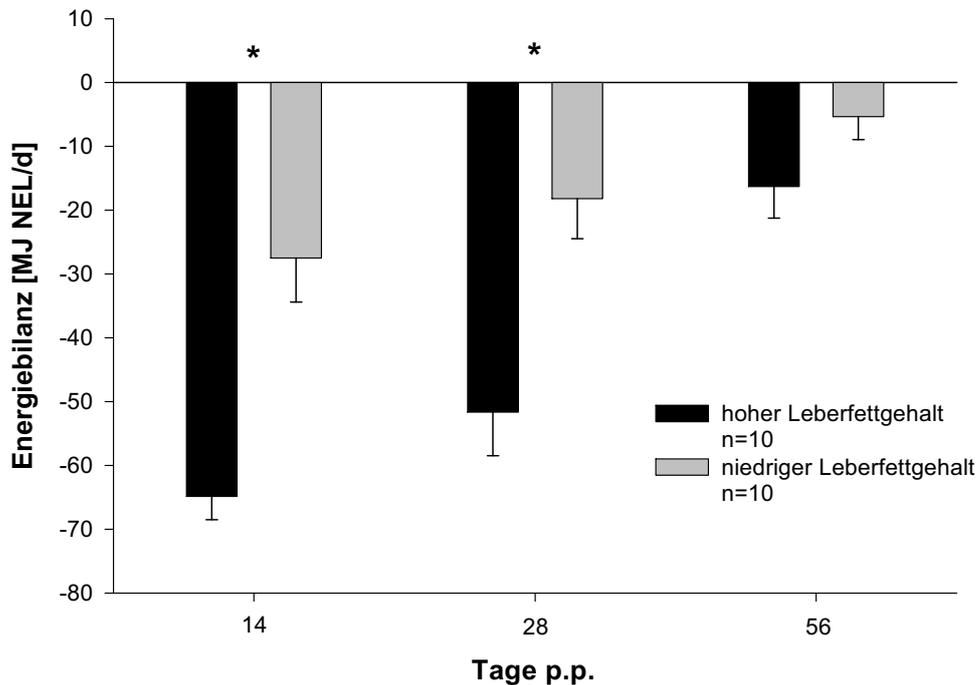


**Abb. 15:** Mittlerer Laktosegehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 14. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,03$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,15$ ; Laktation:  $p=0,20$ )

#### 4.4 Energiebilanz

Die Energiebilanz der Probanden wurde am 14., 28. und 56. Laktationstag ermittelt und als Nettoenergie für die Laktation je Tag angegeben.

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere negative Energiebilanz in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p<0,05$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 16). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde insbesondere am 14. und 28. Tag p.p. ein signifikant größeres ( $p<0,05$ ) mittleres Energiedefizit festgestellt.



**Abb. 16:** Mittlere Energiebilanz ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 14., 21. und 56. Tag p.p.

Effekte: (Gruppe:  $p=0,01$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,18$ ; Laktation:  $p=0,92$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p\leq 0,05$ )

Mit  $-64,86 \pm 11,45$  MJ NEL in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $-27,49 \pm 6,91$  MJ NEL in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt war die negative Energiebilanz am 14. Tag p.p. in den Gruppen jeweils am größten. Im Zeitraum zwischen dem 14. und 56. Tag p.p. verringerte sich das Energiedefizit in beiden Gruppen kontinuierlich. Bis zum 28. Tag p.p. verringerte sich das Defizit in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt um 20 % auf  $51,64 \pm 6,89$  MJ NEL, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt um 34 % auf  $18,20 \pm 6,28$  MJ NEL. Am 56. Tag p.p. betrug das energetische Defizit in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt  $16,30 \pm 4,97$  MJ NEL, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt  $5,33 \pm 3,62$  MJ NEL, und damit 25 % bzw. 19 % des Ausgangsniveaus vom 14. Tag p.p..

## 4.5 Metabolite und Hormone

Zur Einschätzung der Stoffwechsellage der Probanden wurden in Blutproben, die im Zeitraum zwischen dem 20. Tag a.p. und dem 56. Tag p.p. entnommen wurden, die Konzentrationen von Stoffwechselmetaboliten sowie stoffwechselrelevanten Hormonen bestimmt.

### 4.5.1 Metabolite

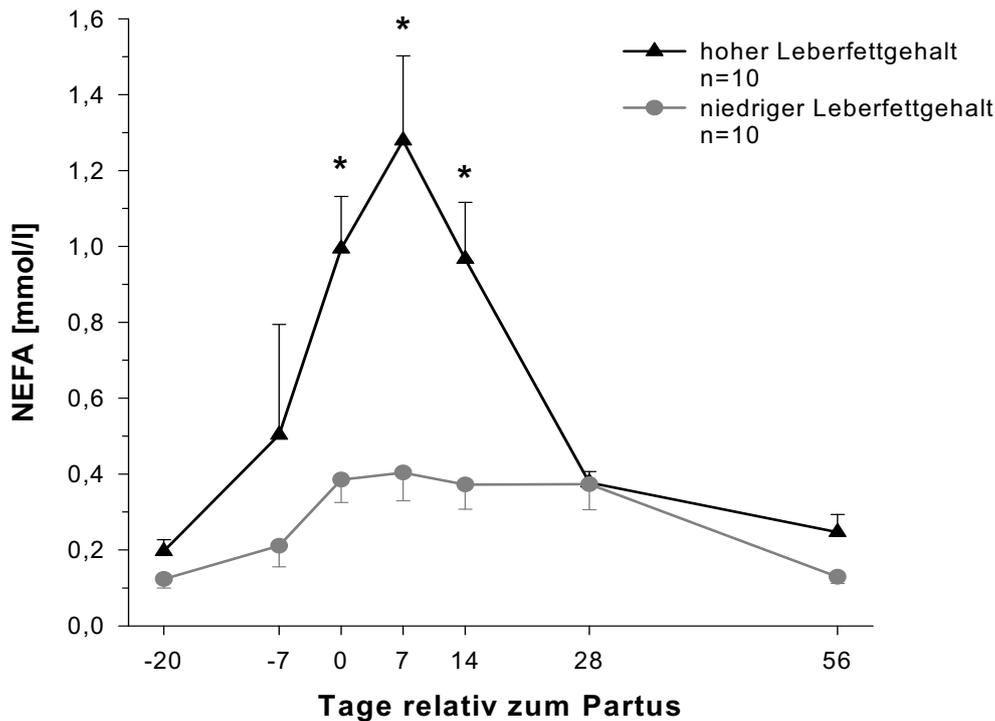
Im Blutserum wurden die Konzentrationen von freien Fettsäuren (NEFA), Betahydroxybutyrat (BHB) sowie Glucose bestimmt.

#### 4.5.1.1 Freie Fettsäuren

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere Konzentration freier Fettsäuren in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 17). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde insbesondere zum Partus sowie am 7. und 14. Tag p.p. eine signifikant höhere ( $p < 0,05$ ) mittlere Konzentration des Metaboliten festgestellt.

Zu Untersuchungsbeginn, am 20. Tag a.p., wurde mit  $0,20 \pm 0,03$  mmol/l in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $0,12 \pm 0,02$  mmol/l in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste Konzentration freier Fettsäuren gemessen. In beiden Gruppen nahm die Konzentration im Zeitraum zwischen dem 20. Tag a.p. und dem 7. Tag p.p. zu, wobei der Anstieg in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stärker ausgeprägt war. Die höchste NEFA-Konzentration wurde in den Gruppen jeweils am 7. Tag p.p. gemessen. Mit  $1,28 \pm 0,22$  mmol/l war die Konzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt zu diesem Zeitpunkt mehr als dreimal so hoch wie in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt ( $0,40 \pm 0,07$  mmol/l). In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt blieb die Konzentration freier Fettsäuren im Zeitraum zwischen dem 7. und 28. Tag p.p. auf einem annähernd konstanten Niveau ( $0,37 \pm 0,07$  mmol/l), bevor sie bis zum 56. Tag p.p. auf  $0,13 \pm 0,02$  mmol/l abfiel. Im Zeitraum zwischen dem 7. und 28. Tag p.p. sank die NEFA-Konzentration in der Gruppe mit hohem

Leberfettgehalt auf das Konzentrationsniveau der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt ab, bevor sie bis zum 56. Tag p.p. auf  $0,25 \pm 0,05$  mmol/l zurückging.



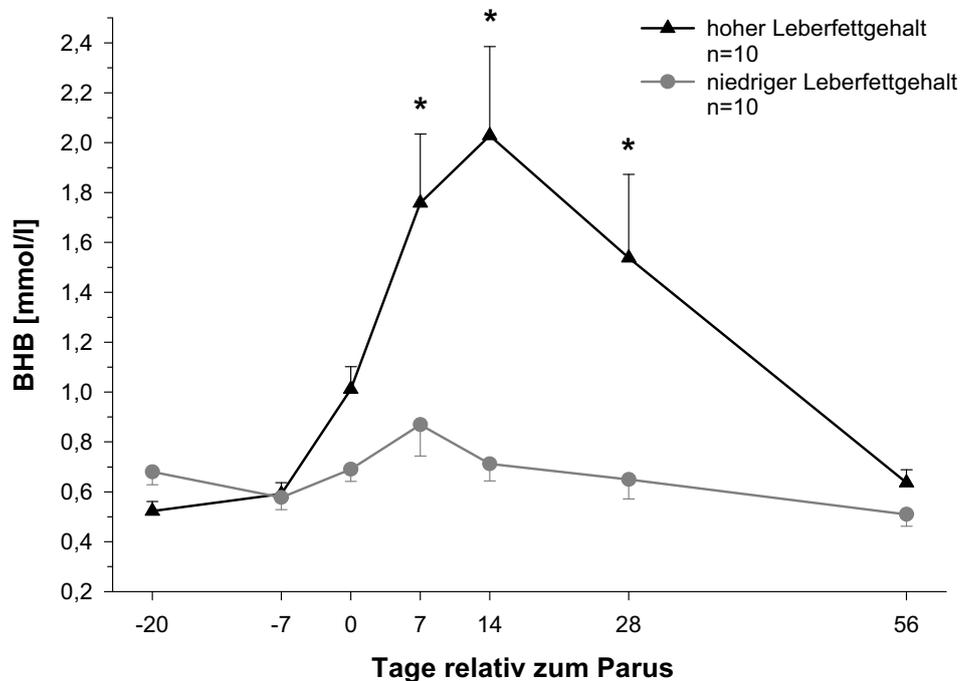
**Abb. 17:** Mittlere Serum-NEFA-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p = 0,56$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )

#### 4.5.1.2 Betahydroxybutyrat

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere Konzentration von Betahydroxybutyrat in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 18). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde insbesondere am 7., 14. sowie 28. Tag p.p. eine signifikant höhere ( $p < 0,05$ ) mittlere BHB-Konzentration festgestellt.

Die geringste BHB-Konzentration wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt am 20. Tag a.p. ( $0,52 \pm 0,04$  mmol/l), in der Gruppe mit

niedrigem Leberfettgehalt am 7. Tag a.p. ( $0,57 \pm 0,05$  mmol/l) gemessen. Nachdem die BHB-Konzentration beider Gruppen am 7. Tag a.p. nahezu identisch war, nahm die Konzentration des Metaboliten ab dem 7. Tag a.p. in beiden Gruppen zu, wobei der Anstieg in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stärker ausgeprägt war. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt stieg die BHB-Konzentration bis zum 7. Tag p.p. auf einen maximalen Wert von  $0,87 \pm 0,13$  mmol/l, in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bis zum 14. Tag p.p. auf einen Maximalwert von  $2,03 \pm 0,36$  mmol/l an.



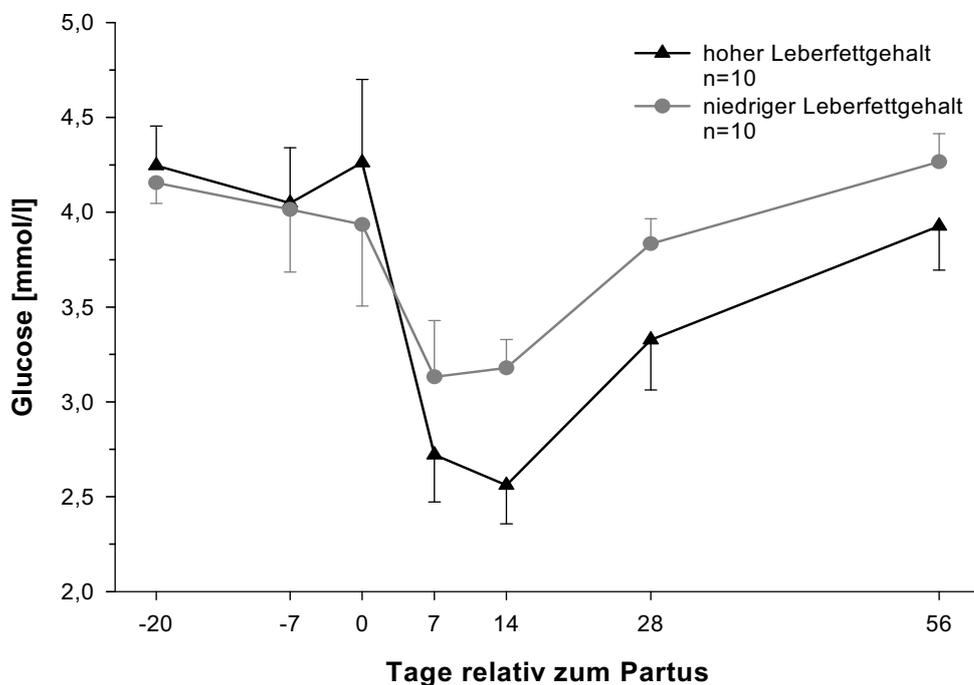
**Abb. 18:** Mittlere Serum-BHB-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p = 0,44$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )

Damit lag die maximale Konzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt beim 3,9-fachen, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt beim 1,3-fachen Wert der jeweiligen Ausgangskonzentration vom 20. Tag a.p.. Nach Erreichen der jeweiligen Maximalkonzentration fiel die Konzentration von Betahydroxybutyrat bis zum 56. Tag p.p. in der Gruppe mit hohem

Leberfettgehalt auf  $0,64 \pm 0,05$  mmol/l, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $0,51 \pm 0,05$  mmol/l ab.

#### 4.5.1.3 Glucose

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere Glucosekonzentration in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt tendenziell höher ( $p=0,1$ ) als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt (Abbildung 19).



**Abb. 19:** Mittlere Serum-Glucosekonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,10$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,48$ ; Laktation:  $p=0,24$ )

Zu Beginn der Untersuchung, am 20. Tag a.p., war die Glucosekonzentration mit  $4,25 \pm 0,21$  mmol/l in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $4,16 \pm 0,11$  mmol/l in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt annähernd gleich. Während die Glucosekonzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bis zum Partus auf einem annähernd konstanten Niveau blieb ( $4,26 \pm 0,44$  mmol/l), fiel die Konzentration in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in diesem Zeitraum auf  $3,94 \pm 0,43$  mmol/l ab. Nach dem Partus

fiel die Glucosekonzentration in beiden Gruppen stark ab, wobei der Konzentrationsabfall in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stärker ausgeprägt war. Die mittlere Konzentration des Metaboliten sank in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bis zum 14. Tag p.p. auf den Minimalwert von  $2,56 \pm 0,20$  mmol/l, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bis zum 7. Tag p.p. auf den Minimalwert von  $3,13 \pm 0,30$  mmol/l ab. Nach Erreichen der jeweiligen Minimalkonzentration stieg die Konzentration bis zum 56. Tag p.p. in beiden Gruppen an. Am 56. Tag p.p. lag die Glucosekonzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bei  $3,93 \pm 0,23$  mmol/l, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $4,27 \pm 0,15$  mmol/l.

#### **4.5.2 Hormone**

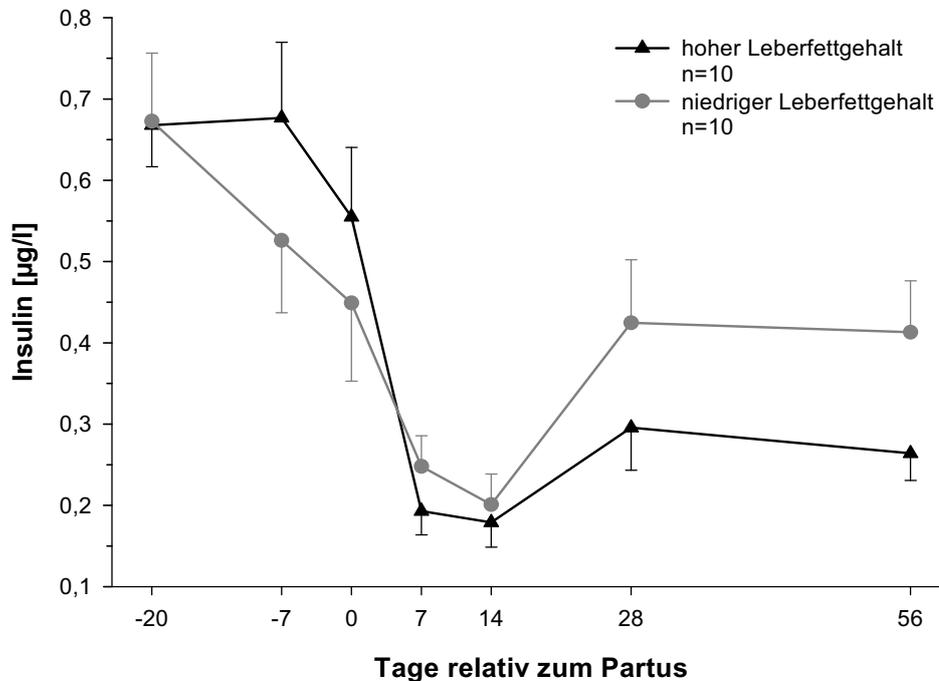
Im Blutplasma wurden die Konzentrationen von Insulin, Glucagon, Insulin-like growth factor-1 sowie Leptin bestimmt. Darüber hinaus wurde das Glucagon/Insulin-Verhältnis (molare Konzentrationen) ermittelt.

##### **4.5.2.1 Insulin**

Im Untersuchungszeitraum unterschied sich die mittlere Insulinkonzentration nicht signifikant ( $p=0,96$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 20).

Die Insulinkonzentration war zu Untersuchungsbeginn, am 20. Tag a.p., mit  $0,67 \pm 0,05$  µg/l in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $0,67 \pm 0,08$  µg/l in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen nahezu identisch. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt blieb die Konzentration im Zeitraum zwischen dem 20. und 7. Tag a.p. auf annähernd konstantem Niveau ( $0,68 \pm 0,09$  µg/l), bevor sie bis zum Partus auf einen Wert von  $0,56 \pm 0,09$  µg/l abfiel. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt sank die Insulinkonzentration im Zeitraum zwischen dem 20. Tag a.p. und dem Partus auf  $0,45 \pm 0,09$  µg/l ab. Im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 14. Tag p.p. fiel die Konzentration in beiden Gruppen stark ab, wobei der stärkste Konzentrationsabfall jeweils zwischen dem Partus und dem 7. Tag p.p. auftrat. Am 14. Tag p.p. wurde mit  $0,18 \pm 0,03$  µg/l in der Gruppe mit hohem

Leberfettgehalt bzw.  $0,20 \pm 0,04 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste Konzentration gemessen.

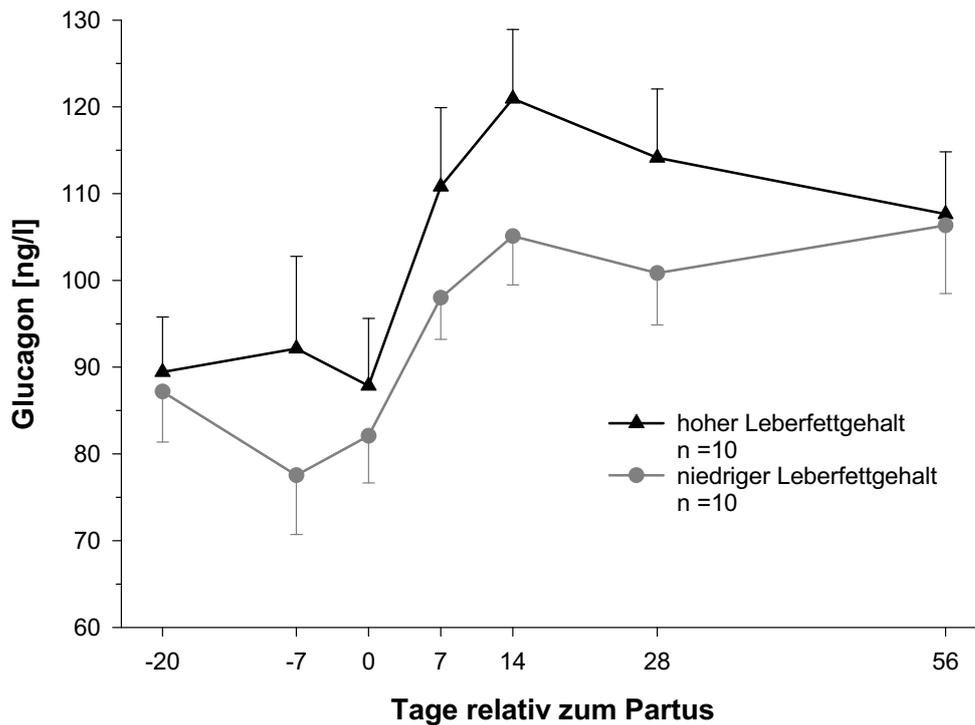


**Abb. 20:** Mittlere Plasma-Insulinkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
Effekte: (Gruppe:  $p=0,96$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,63$ ; Laktation:  $p=0,62$ )

Im Zeitraum zwischen dem 14. und 28. Tag p.p. nahm die Insulinkonzentration in beiden Gruppen zu. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stieg sie auf den Wert von  $0,29 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ , in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $0,42 \pm 0,08 \mu\text{g/l}$  an. Bis zum 56. Tag p.p. blieb die Insulinkonzentration in beiden Gruppen auf jeweils nahezu konstantem Niveau ( $0,26 \pm 0,03 \mu\text{g/l}$  bzw.  $0,41 \pm 0,06 \mu\text{g/l}$ ).

#### 4.5.2.2 Glucagon

Die mittlere Glucagonkonzentration unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,18$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 21).

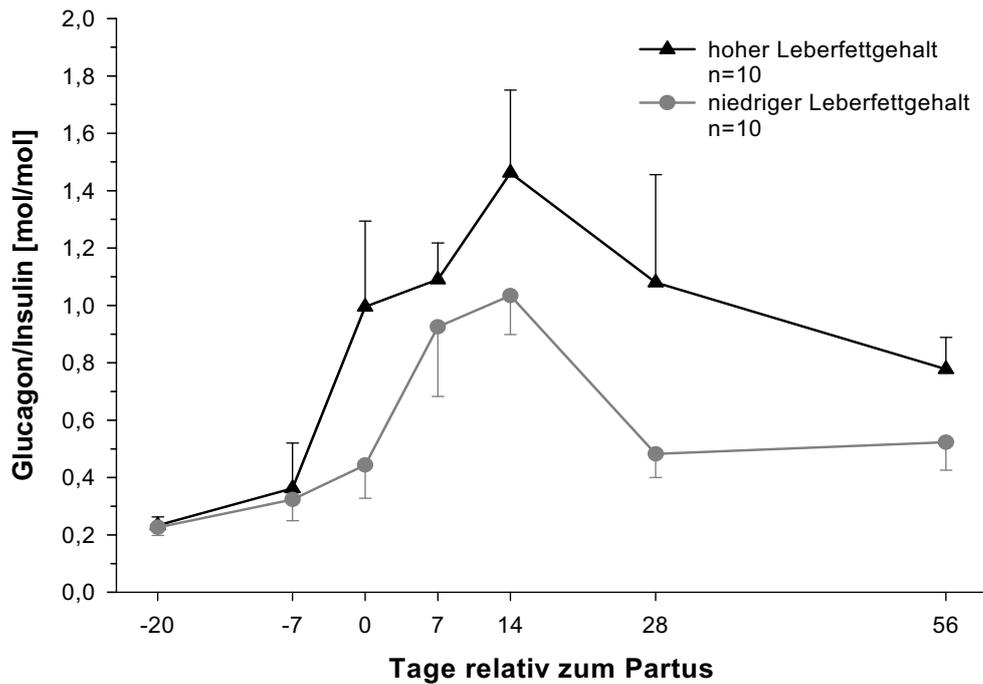


**Abb. 21:** Mittlere Plasma-Glucagonkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,18$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,63$ ; Laktation:  $p=0,50$ )

Zu Beginn der Untersuchung, am 20. Tag a.p., war die Glucagonkonzentration mit  $89,43 \pm 6,35$  ng/l in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $87,18 \pm 5,83$  ng/l in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt nahezu identisch. Bis zum Partus fiel die Konzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auf  $87,85 \pm 7,77$  ng/l, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $82,08 \pm 5,43$  ng/l ab. Im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 14. Tag p.p. stieg die Glucagonkonzentration in beiden Gruppen an, wobei der größte Anstieg jeweils zwischen dem Partus und dem 7. Tag p.p. auftrat. Am 14. Tag p.p. wurde mit  $120,93 \pm 7,97$  ng/l in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $105,09 \pm 5,63$  ng/l in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die maximale Konzentration gemessen. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt sank die Konzentration im Zeitraum zwischen dem 14. und 56. Tag p.p. auf  $107,63 \pm 7,17$  ng/l ab. Im selben Zeitraum stieg die Konzentration in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf den Wert von  $106,34 \pm 7,86$  ng/l an.

### 4.5.2.3 Glucagon/Insulin-Verhältnis

Im Untersuchungszeitraum war der mittlere Relationswert für das Glucagon/Insulin-Verhältnis in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p < 0,05$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 22).



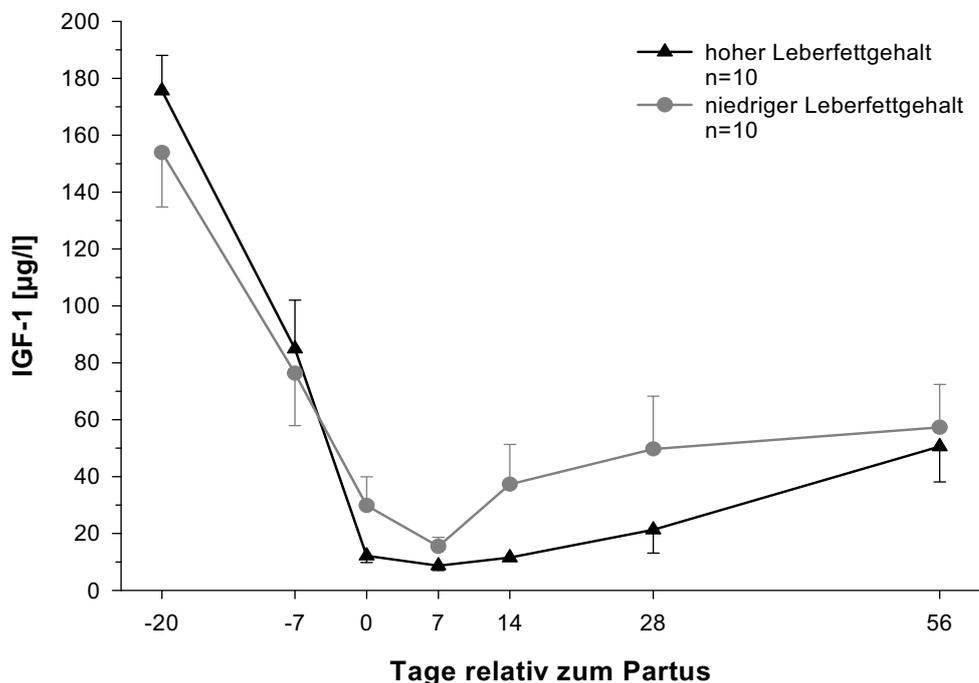
**Abb. 22:** Mittleres Glucagon/Insulin-Verhältnis ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20.Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,02$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,50$ ; Laktation:  $p=0,45$ )

Zu Untersuchungsbeginn, am 20. Tag a.p., wurde mit  $0,23 \pm 0,03$  in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $0,22 \pm 0,03$  in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt jeweils der geringste Relationswert ermittelt. Bis zum 14. Tag p.p. stieg der Relationswert in den Gruppen auf den jeweiligen Maximalwert an. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt lag dieser bei  $1,46 \pm 0,23$ , in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $1,03 \pm 0,14$ . In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt fiel der Relationswert bis zum 28. Tag p.p. auf  $1,08 \pm 0,38$ , bis zum 56. Tag p.p. auf  $0,78 \pm 0,11$  ab. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt verminderte sich der Relationswert bis zum 28. Tag p.p. auf

$0,48 \pm 0,08$  und blieb bis zum 56. Tag p.p. annähernd auf diesem Niveau ( $0,52 \pm 0,10$ ).

#### 4.5.2.4 Insulin-like growth factor-1

Die mittlere IGF-1-Konzentration unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,66$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 23).



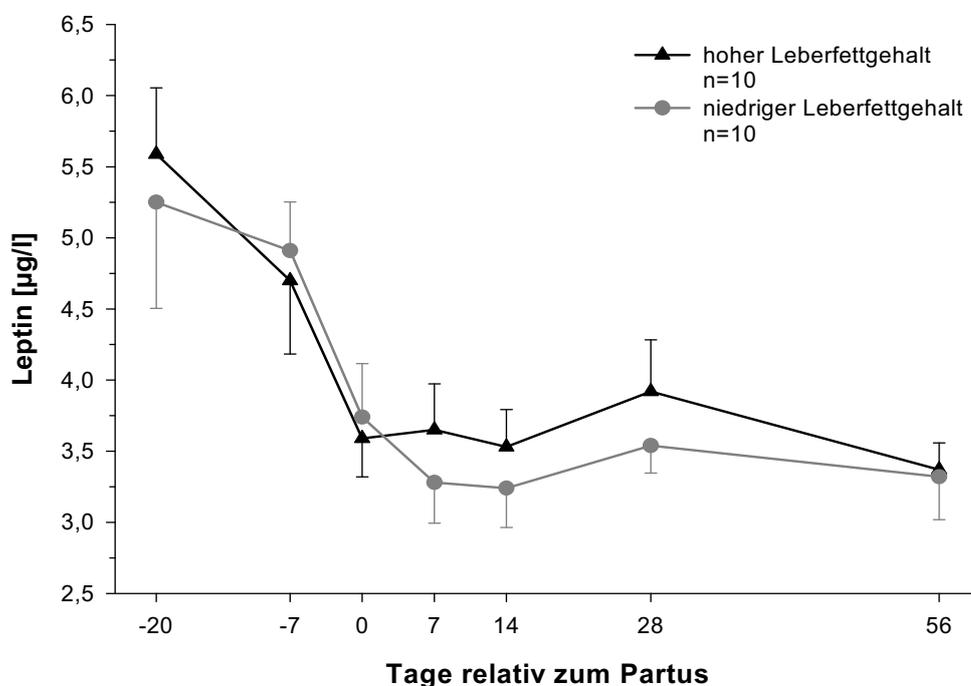
**Abb. 23:** Mittlere Plasma-IGF-1-Konzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
Effekte: (Gruppe:  $p=0,66$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,23$ ; Laktation:  $p=0,75$ )

Zu Beginn der Untersuchung, am 20. Tag a.p., wurde mit  $175,62 \pm 12,42 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $153,86 \pm 19,10 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die größte Konzentration gemessen. Im Zeitraum zwischen dem 20. Tag a.p. und dem 7. Tag p.p. fiel die Konzentration in beiden Gruppen stark ab. Am 7. Tag p.p. wurde mit  $8,64 \pm 1,62 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $15,44 \pm 3,19 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die geringste IGF-1-Konzentration gemessen. Im Zeitraum zwischen

dem 7. und 56. Tag p.p. nahm die Konzentration in beiden Gruppen zu. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt stieg sie bis zum 56. Tag p.p. auf  $50,54 \pm 12,44 \mu\text{g/l}$ , in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $57,27 \pm 15,10 \mu\text{g/l}$  an.

#### 4.5.2.5 Leptin

Die mittlere Leptinkonzentration unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,68$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 24).



**Abb. 24:** Mittlere Plasma-Leptinkonzentration ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.  
Effekte: (Gruppe:  $p=0,68$ ; Tag:  $p<0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,87$ ; Laktation:  $p=0,98$ )

Zu Untersuchungsbeginn, am 20. Tag a.p., wurde mit  $5,58 \pm 0,47 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $5,25 \pm 0,74 \mu\text{g/l}$  in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils die größte Leptinkonzentration gemessen. Im Zeitraum zwischen dem 20. Tag a.p. und dem Partus fiel die Konzentration in beiden Gruppen stark ab, wobei der stärkste Konzentrationsabfall jeweils zwischen dem 7. Tag a.p. und dem Partus

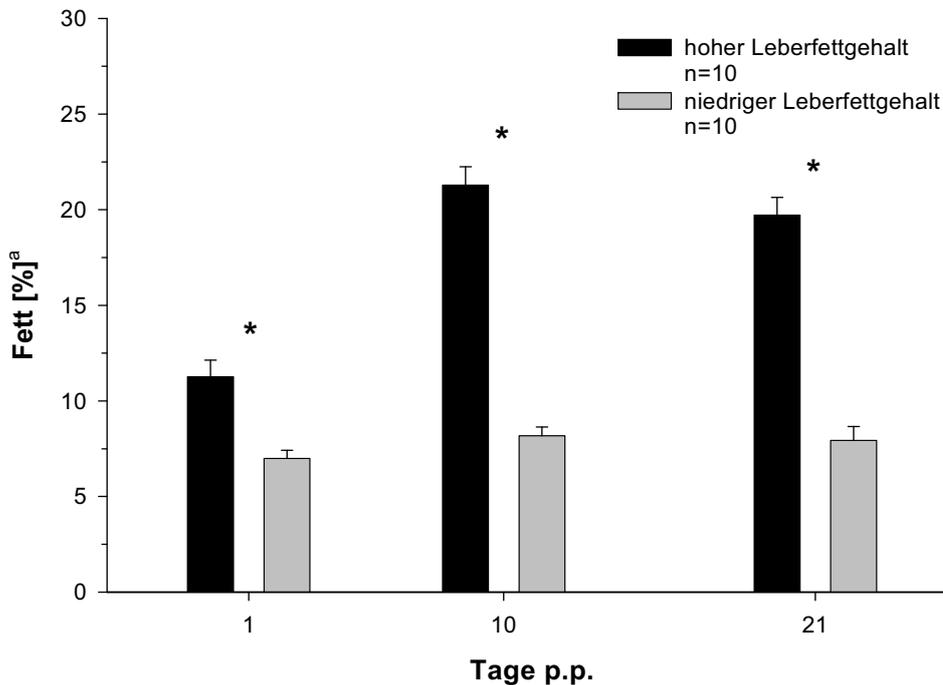
auftrat. Bis zum Partus verringerte sich die Leptinkonzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auf  $3,59 \pm 0,27 \mu\text{g/l}$ , in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $3,74 \pm 0,38 \mu\text{g/l}$ . In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt blieb die Konzentration im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 14. Tag p.p. auf annähernd konstantem Niveau ( $3,53 \pm 0,26 \mu\text{g/l}$ ), bevor sie bis zum 28. Tag p.p. auf einen Wert von  $3,92 \pm 0,36 \mu\text{g/l}$  anstieg. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt verringerte sich die Leptinkonzentration im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 7. Tag p.p. auf  $3,28 \pm 0,29 \mu\text{g/l}$ , blieb bis zum 14. Tag p.p. auf annähernd konstantem Niveau ( $3,24 \pm 0,28 \mu\text{g/l}$ ) und stieg bis zum 28. Tag p.p. auf  $3,54 \pm 0,19 \mu\text{g/l}$  an. Im Zeitraum zwischen dem 28. und 56. Tag p.p. fiel die Konzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auf  $3,37 \pm 0,19 \mu\text{g/l}$ , in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $3,32 \pm 0,30 \mu\text{g/l}$  ab.

#### **4.6 Leberparameter**

In den am 1., 10., sowie 21. Tag p.p. mittels Biopsie gewonnenen Leberproben wurden der Fettgehalt (gesamte Lipide), der Glykogengehalt sowie die exprimierten mRNA-Mengen für die gluconeogenetischen Enzyme Pyruvatcarboxylase (PC), cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-C), mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-M) sowie Glucose-6-phosphatase (G6Pase) bestimmt.

##### **4.6.1 Fett (gesamte Lipide)**

Entsprechend dem gewählten experimentellen Design unterschieden sich die Untersuchungsgruppen signifikant hinsichtlich des Leberfettgehaltes. Im Untersuchungszeitraum war der mittlere Leberfettgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 25). In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde zu jedem Untersuchungszeitpunkt ein signifikant größerer ( $p < 0,01$ ) mittlerer Gesamtlipidgehalt festgestellt.



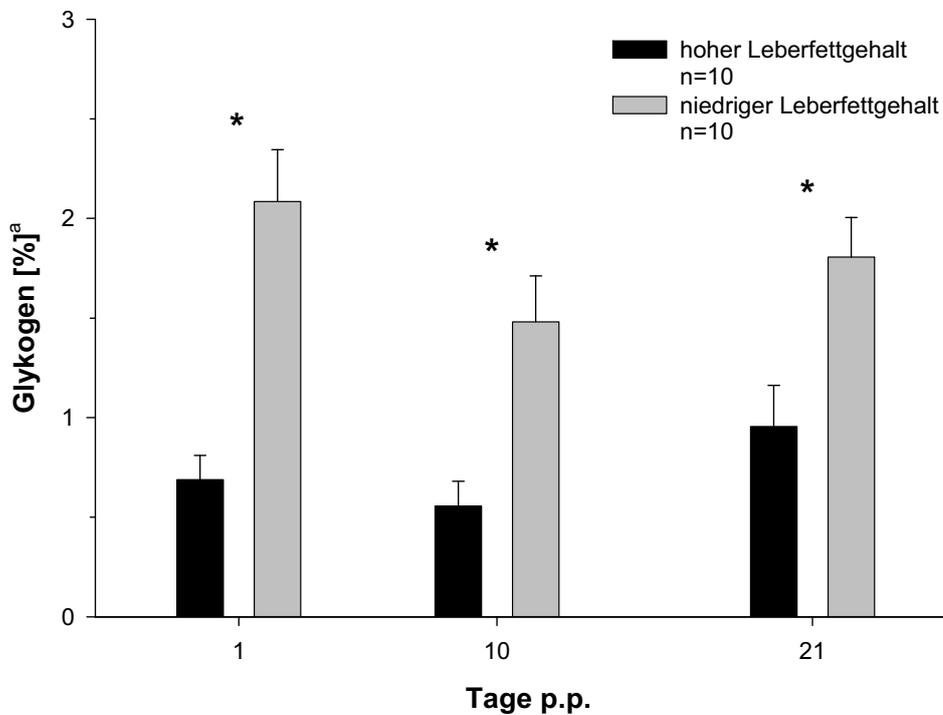
**Abb. 25:** Mittlerer Leberfettgehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) am 1., 10. und 21. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p < 0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p < 0,01$ ; Laktation:  $p = 0,07$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )  
<sup>a</sup>bezogen auf die Originalsubstanz

In beiden Gruppen wurde am 1. Tag p.p. mit  $11,3 \pm 0,9$  % in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw.  $7,0 \pm 0,4$  % in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt der jeweils geringste Fettgehalt gemessen. Bis zum 10. Tag p.p. stieg der Leberfettgehalt in beiden Gruppen auf den jeweils höchsten Wert an. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt lag dieser bei  $21,3 \pm 0,1$  %, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt bei  $8,2 \pm 0,5$  %. Bis zum 21. Tag p.p. fiel der Fettgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auf  $19,7 \pm 0,9$  %, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf  $7,9 \pm 0,7$  % ab.

#### 4.6.2 Glykogen

Im Untersuchungszeitraum war der mittlere Glykogengehalt in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt (Abbildung 26). In der Gruppe mit niedrigem

Leberfettgehalt wurde zu jedem Untersuchungszeitpunkt ein signifikant größerer ( $p < 0,01$ ) mittlerer Glykogengehalt in der Leber festgestellt.

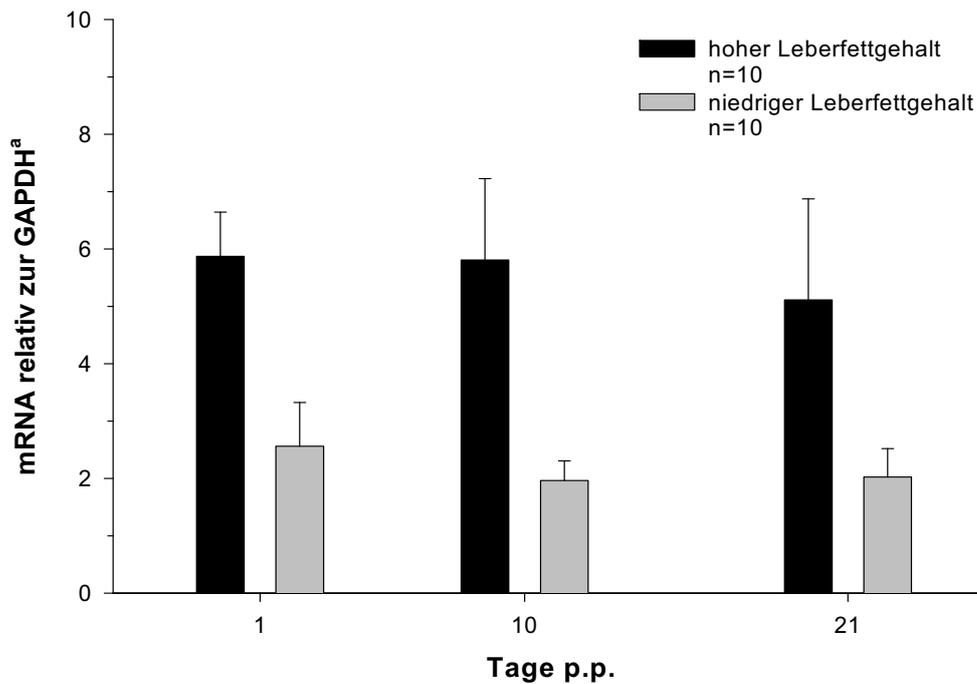


**Abb. 26:** Mittlerer Glykogengehalt ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p = 0,13$ ; Gruppe  $\times$  Tag:  $p = 0,32$ ; Laktation:  $p = 0,37$ )  
 \*Zeitpunkt mit signifikanter Mittelwertdifferenz ( $p \leq 0,05$ )  
 ªbezogen auf die Originalsubstanz

Am 1. Tag p.p. lag der Glykogengehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bei  $0,69 \pm 0,12$  %, verringerte sich bis zum 10. Tag p.p. auf  $0,56 \pm 0,13$  % und stieg bis zum 21. Tag p.p. auf den Wert von  $0,96 \pm 0,21$  % an. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt betrug der Glykogengehalt am 1. Tag p.p.  $2,09 \pm 0,26$  %, verminderte sich bis zum 10. Tag p.p. auf  $1,48 \pm 0,23$  % und erhöhte sich bis zum 21. Tag p.p. auf  $1,81 \pm 0,20$  %.

### 4.6.3 Pyruvatcarboxylase

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere, exprimierte PC mRNA-Menge in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p < 0,05$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 27).

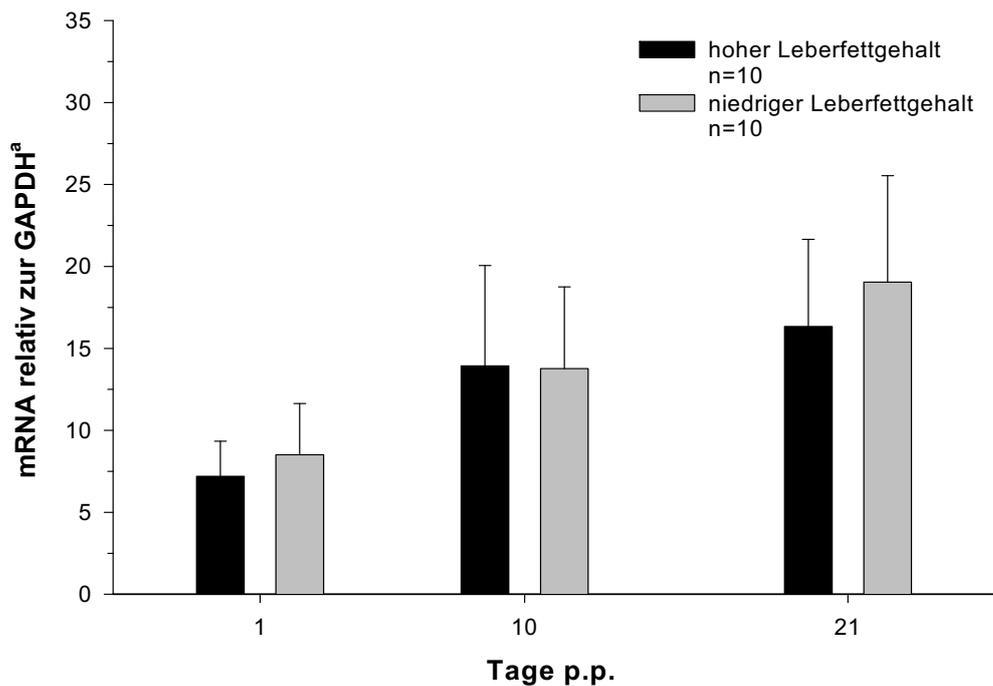


**Abb. 27:** Mittlere Pyruvatcarboxylase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p < 0,01$ ; Tag:  $p = 0,75$ ; Gruppe  $\times$  Tag:  $p = 0,91$ ; Laktation:  $p = 0,77$ )  
<sup>a</sup>Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

Am 1. Tag p.p. war die exprimierte PC mRNA-Menge mit der  $5,87 \pm 0,77$ -fachen Expression in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw. der  $2,56 \pm 0,76$ -fachen Expression in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils am größten. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt blieb die exprimierte mRNA-Menge für Pyruvatcarboxylase bis zum 10. Tag p.p. auf annähernd konstantem Niveau ( $8,81 \pm 1,42$ -fache Expression), bevor sie bis zum 21. Tag auf den  $5,11 \pm 1,76$ -fachen Wert zurückging. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt verminderte sich die Expression bis zum 10. Tag p.p. auf den  $1,97 \pm 0,34$ -fachen Wert und blieb bis zum 21. Tag p.p. auf diesem Level ( $2,02 \pm 0,49$ -fache Expression).

#### 4.6.4 Cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase

Die mittlere, exprimierte PEPCK-C mRNA-Menge unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,67$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 28). In beiden Gruppen nahm die mittlere, exprimierte PEPCK-C mRNA-Menge im Verlauf der Untersuchung kontinuierlich zu ( $p<0,01$ ).



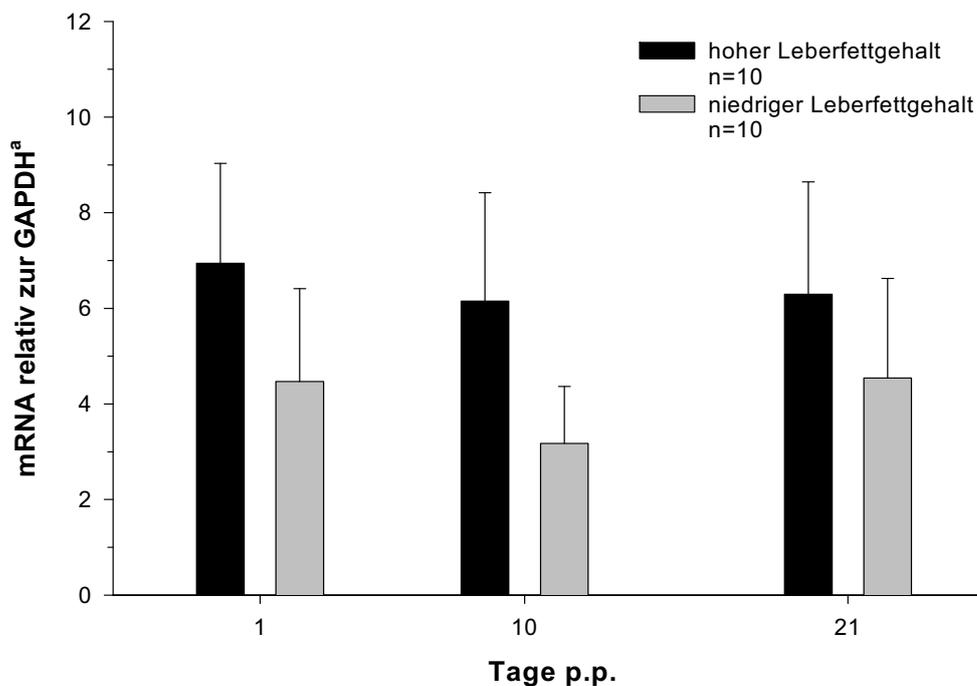
**Abb. 28:** Mittlere cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p.

Effekte: (Gruppe:  $p=0,76$ ; Tag:  $p=0,01$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,71$ ; Laktation:  $p=0,99$ )  
<sup>a</sup>Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

Am 1. Tag p.p. war mit dem  $7,19 \pm 2,14$ -fachen Expressionswert in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw. dem  $8,50 \pm 3,14$ -fachen Expressionswert in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt die exprimierte mRNA-Menge für PEPCK-C in den Gruppen jeweils am geringsten. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt erhöhte sich die Expression bis zum 10. Tag p.p. auf den  $13,93 \pm 6,12$ -fachen Wert, bis zum 21. Tag p.p. auf den  $16,33 \pm 5,32$ -fachen Wert. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt stieg die exprimierte mRNA-Menge für PEPCK-C bis zum 10. Tag p.p. auf den  $13,77 \pm 4,98$ -fachen Wert, bis zum 21. Tag p.p. auf den  $19,04 \pm 6,49$ -fachen Wert an.

#### 4.6.5 Mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase

Die mittlere, exprimierte PEPCK-M mRNA-Menge unterschied sich im Untersuchungszeitraum nicht signifikant ( $p=0,40$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 29).



**Abb. 29:** Mittlere mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p.

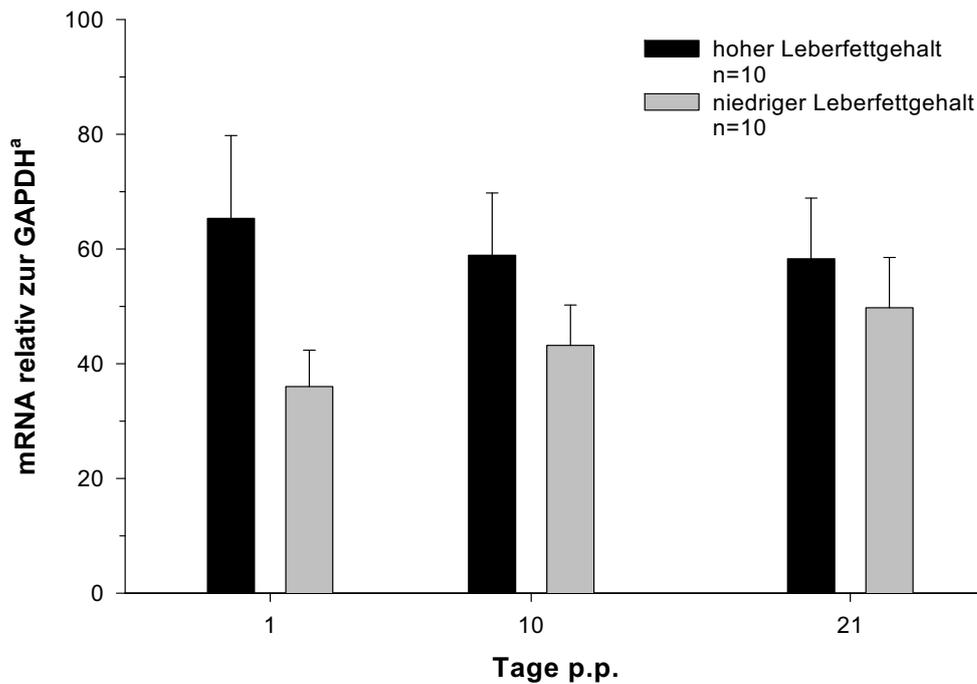
Effekte: (Gruppe:  $p=0,40$ ; Tag:  $p=0,61$ ; Gruppe×Tag:  $p=0,55$ ; Laktation:  $p=0,93$ )

<sup>a</sup>Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde am 1. Tag p.p. die  $6,94 \pm 2,09$ -fache Expression, am 10. Tag p.p. die  $6,15 \pm 2,26$ -fache Expression und am 21. Tag p.p. die  $6,29 \pm 2,35$ -fache Expression gemessen. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt betrug der Expressionswert am 1. Tag p.p.  $4,47 \pm 1,94$ , am 10. Tag p.p.  $3,17 \pm 1,19$  und am 21. Tag p.p.  $4,54 \pm 2,08$ .

#### 4.6.6 Glucose-6-phosphatase

Im Untersuchungszeitraum war die mittlere, exprimierte G6Pase mRNA-Menge in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt tendenziell größer ( $p=0,09$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt (Abbildung 30).



**Abb. 30:** Mittlere Glucose-6-phosphatase mRNA-Menge ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt am 1., 10. und 21. Tag p.p.  
 Effekte: (Gruppe:  $p=0,09$ ; Tag:  $p=0,96$ ; Gruppe $\times$ Tag:  $p=0,49$ ; Laktation  $p=0,27$ )  
<sup>a</sup>Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

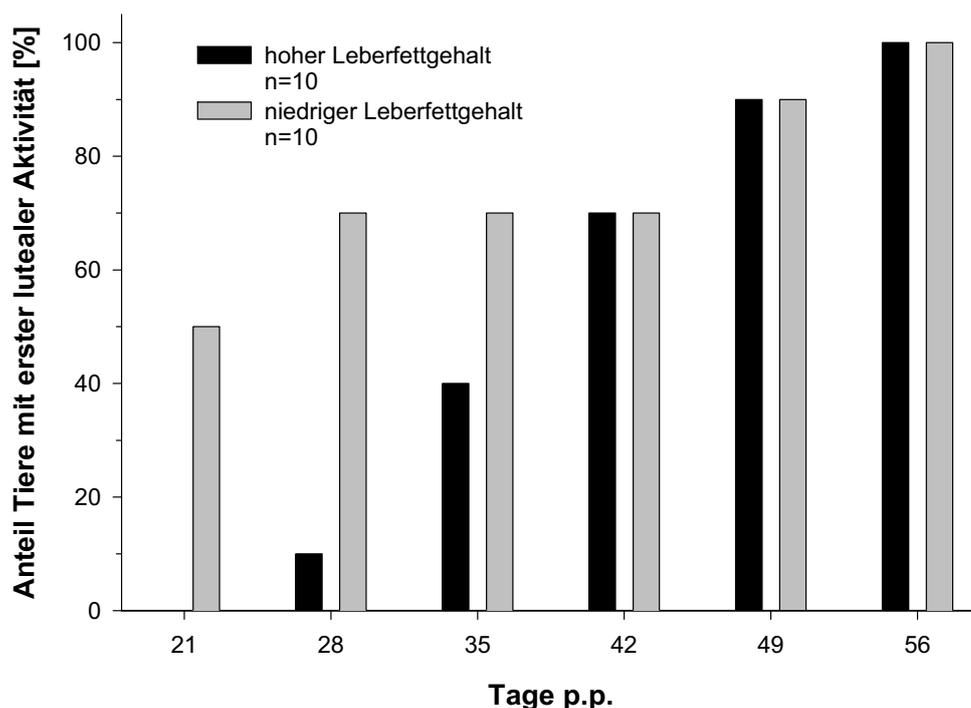
Am 1. Tag p.p. wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt mit der  $65,33 \pm 14,41$ -fachen Expression der höchste, in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt mit der  $36,00 \pm 6,35$ -fachen Expression der kleinste Expressionswert des Untersuchungszeitraumes ermittelt. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt verminderte sich die Expression bis zum 10. Tag p.p. auf den  $58,89 \pm 10,86$ -fachen Wert und blieb bis zum 21. Tag p.p. auf annähernd konstantem Niveau ( $58,74 \pm 10,56$ -fache Expression). In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt erhöhte sich die Expression bis zum 10. Tag p.p. auf den  $43,19 \pm 7,07$ -fachen Wert, bis zum 21. Tag p.p. auf den  $58,30 \pm 10,57$ -fachen Wert.

#### 4.7 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation

In den, ab der 3. Woche p.p. jeweils im 7-Tage-Intervall entnommenen, Milchproben wurde die Milchprogesteronkonzentration bestimmt und anhand deren individuellen Verlaufsprofils (Anhang, Tabelle A2) der Zeitpunkt der ersten lutealen Aktivität p.p. ermittelt.

##### 4.7.1 Erste luteale Aktivität in der Frühlaktation

Die Untersuchungsgruppen unterschieden sich signifikant hinsichtlich des Zeitpunktes, an dem in der Frühlaktation die erste luteale Aktivität festgestellt wurde (Tabelle 5). Die Abbildung 31 gibt den Anteil Probanden der Untersuchungsgruppen wieder, bei dem, bis zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten eine erste luteale Aktivität festgestellt wurde.



**Abb. 31:** Anteil Tiere mit erster lutealer Aktivität in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt im Zeitraum 21. - 56. Tag p.p.

Von den 20 Versuchstieren wurde bei 8 Probanden bzw. 40 % ein „frühes“, bei 12 Probanden bzw. 60 % ein „späteres“ Wiedereinsetzen der lutealen Aktivität festgestellt. Von den 8 Probanden, bei denen eine „frühe“ luteale Aktivität festgestellt wurde, gehörten 7 Probanden bzw. 87,5 % der Gruppe mit

niedrigem Leberfettgehalt an, während 1 Proband bzw. 12,5 % der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt angehörte. Von den 12 Probanden mit „später“ einsetzender, lutealer Aktivität gehörten 9 Probanden bzw. 75 % zur Gruppe mit hohem Leberfettgehalt, während 3 Probanden bzw. 25 % zur Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt gehörten.

**Tab. 5:** Anzahl und Anteil Tiere mit „früher“ bzw. „späterer“ erster lutealer Aktivität p.p. in Abhängigkeit vom Leberfettgehalt

	<b>FRÜH<sup>a</sup></b>	<b>SPÄTER<sup>b</sup></b>
hoher Leberfettgehalt, n=10	<b>1 (12,5%)</b>	<b>9 (75,0%)</b>
niedriger Leberfettgehalt, n=10	<b>7 (87,5%)</b>	<b>3 (25,0%)</b>
Total	<b>8</b>	<b>12</b>
Chi-Square	0,0062	
Fisher's Exact Test, Two-sided $Pr \leq p$	0,0198	

<sup>a</sup>erste luteale Aktivität bis zum 28. Tag p.p.

<sup>b</sup>erste luteale Aktivität ab dem 35. Tag p.p.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Material und Methoden**

#### **5.1.1 Untersuchungsansatz**

Für die Untersuchungen wurde ein Tierexperiment durchgeführt, in das 48 multipare Kühe der Rasse Deutsche-Holsteins, die unter Produktionsbedingungen gehalten wurden, einbezogen waren. Von den Probanden wurden im tierindividuellen Untersuchungszeitraum (60. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) zu definierten Untersuchungszeitpunkten Substrate für die Laboranalysen gewonnen sowie ausgewählte zootechnische Parameter erfasst. Für die Bearbeitung der durch die Zielstellung vorgegebenen Aufgaben wurden unter den 48 Probanden retrospektiv die jeweils 10 Tiere mit der größten bzw. geringsten peripartalen metabolischen Belastung identifiziert und so zwei Untersuchungsgruppen (je 10 Tiere) generiert. Die individuelle metabolische Belastung wurde dazu anhand des Ausmaßes der hepatischen Lipidakkumulation (gesamte Lipide), welche als Mittelwert aus den Werten des 1., 10. und 21. Tages p.p. bestimmt wurde, quantifiziert. Der gewählte Untersuchungsansatz ermöglichte es, in einer Probandengruppe retrospektiv Tiere zu identifizieren und zu gruppieren, die sich trotz gleicher Bedingungen hinsichtlich Management, Haltung und Fütterung deutlich in ihrer individuellen peripartalen Stoffwechselbelastung unterschieden. Die beiden so definierten Untersuchungsgruppen (hoher bzw. niedriger Leberfettgehalt) ließen sich nun hinsichtlich des gesamten Spektrums der Untersuchungsparameter vergleichen.

Ein Vorteil des gewählten Untersuchungsansatzes wird darin gesehen, dass die Untersuchung unter Bedingungen durchgeführt werden konnte, bei denen alle Probanden gleiche Umweltbedingungen (Management, Haltung und Fütterung) vorfanden. Darüber hinaus ermöglichte die retrospektive Gruppierung die Definition von Untersuchungsgruppen, die sich hinsichtlich des Gruppierungsmerkmals (Leberfettgehalt) hoch signifikant unterschieden.

### **5.1.2 Leberfettgehalt als Indikator der peripartalen Stoffwechselbelastung**

Mit dem postpartalen Leberfettgehalt wurde in der vorliegenden Arbeit ein Parameter als Maß zur quantitativen Beschreibung der peripartalen Stoffwechselbelastung gewählt, der sowohl das Ausmaß der mit der zunehmenden Stoffwechselbelastung assoziierten Körperfettmobilisation als auch die damit einhergehende Belastung der Leber, dem zentralen Stoffwechselorgan des Energiestoffwechsels (RICHARDS 2004), widerspiegelt. Das Ausmaß der Lipidakkumulation in den Hepatozyten ist von der Menge anflutender freier Fettsäuren (RUKKWAMSUK et al. 1998; RUKKWAMSUK et al. 2000; BOBE et al. 2004), der Oxidationskapazität (ANDERSEN et al. 2002), der Veresterungsrate (RUKKWAMSUK 1999) sowie der Kapazität der Hepatozyten, veresterte Triglyceride wieder auszuschleusen, abhängig (ROSSOW und STAUFENBIEL 1983; RUKKWAMSUK 1999). Zur vermehrten Lipidakkumulation kommt es, wenn die Menge anflutender freier Fettsäuren die Kapazität der Hepatozyten, die Fettsäuren zu oxidieren oder wieder auszuschleusen, überschreitet (VAZQUEZ-AÑON et al. 1994; GRUMMER 1993; BOBE et al. 2003,2004; HAYIRLI und GRUMMER 2004; NAFIKOV et al. 2006). Dies bestätigen auch die eigenen Ergebnisse. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde gegenüber der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt, infolge des größeren Energiedefizits, postpartal eine größere Menge Körperfett mobilisiert. Dies zeigt sowohl die stärkere Rückenfettdickenabnahme (STAUFENBIEL 1992) als auch die höhere Konzentration freier Fettsäuren (PULLEN et al. 1989; CHIESA et al. 1991; GOFF und HORST 1997) in der Gruppe. Darüber hinaus ist die höhere Konzentration von Betahydroxybutyrat in dieser Gruppe ein Hinweis auf eine verstärkte Ketogenese (RUSSEL und WRIGHT 1983; OHGI et al. 2005), was darauf hindeutet, dass die Leber sich in einer Belastungssituation befindet, bei der sich in den Hepatozyten mehr freie Fettsäuren befinden als über den Citratzyklus vollständig oxidiert werden können (GRUMMER 1993; DRACKLEY et al. 2001; GRUM et al. 2002). Dem entsprechend weist ein hoher postpartaler Leberfettgehalt auf eine starke Körperfettmobilisation in Verbindung mit einer Überlastung der hepatischen Stoffwechselkapazität, also auf eine hohe Stoffwechselbelastung hin.

Die Bedeutung des Leberfettgehaltes blieb bei der Untersuchung ausschließlich auf dessen Indikatorfunktion beschränkt, da keine Hinweise auf eine pathologische Relevanz des Ausmaßes der hepatischen Lipidakkumulation festgestellt wurden. Während der Untersuchung musste keines der Versuchstiere wegen einer Stoffwechselerkrankung behandelt werden.

## **5.2 Ergebnisse**

### **5.2.1 Zootechnische Parameter**

Die Probanden der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wiesen im Untersuchungszeitraum (60. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) eine signifikant höhere Rückenfettdicke ( $p < 0,05$ ) sowie eine signifikant größere ( $p < 0,01$ ) postpartale Rückenfettdickenabnahme als die Probanden der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt auf.

Zum Zeitpunkt des Trockenstellens sollten Milchkühe über eine Rückenfettdicke im Bereich zwischen 19 mm und 27 mm verfügen (STAUFENBIEL 1993; SCHRÖDER 2000) und diese bis zum Partus möglichst beibehalten, da sowohl zu geringe als auch übermäßig angelegte Fettdepots zum Partus mit Beeinträchtigungen der Milchleistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit assoziiert sind (STAUFENBIEL et al. 1993b; STAUFENBIEL 1999; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Als eine optimale Kondition zum Partus geben STAUFENBIEL (1997) sowie STAUFENBIEL und SCHRÖDER (2004b,c) eine Rückenfettdicke zwischen 20 mm und 30 mm an. Nach dieser Definition läge die mittlere Rückenfettdicke mit 23,9 mm zum Trockenstellen bzw. 24,6 mm zum Partus in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt im optimalen Konditionsbereich, während die Tiere in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt mit 14,9 mm bzw. 16,7 mm zu diesen Zeitpunkten entsprechend unterkonditioniert wären.

Nach ROSSOW (2001) ist insbesondere im Hinblick auf die Gesundheit und Fruchtbarkeit von Milchkühen weniger die während der Früh lactation abgebaute, absolute Menge an Körperfett, sondern vielmehr deren Abbaugeschwindigkeit von Bedeutung. Angestrebt wird eine langsam einsetzende Lipolyse zu Beginn der Laktation, die sich dann protrahiert

fortsetzt, um freie Fettsäuren zur Unterstützung und Stabilisierung des Energiestoffwechsels und der Milchfettsynthese freizusetzen (STAUFENBIEL et al. 1991, 1993a). Nach Angaben verschiedener Autoren (EMERY 1988; SMITH und McNAMARA 1990; STAUFENBIEL et al. 1992a) variiert die zur Kompensation des energetischen Defizits mobilisierte Körperfettmenge zwischen 20 kg und 60 kg, was bei der Annahme, dass 5 kg Körperfett einer Rückenfettdicke von 1 mm gleichkommen (STAUFENBIEL et al. 1993a), einer Rückenfettdickenänderung von 4 mm bzw. 12 mm entspricht. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 56. Tag p.p. eine Verminderung der Rückenfettdicke um 10,4 mm auf 14,2 mm festgestellt. Dieser Rückgang deckt sich mit den Ergebnissen von SCHRÖDER (2000), welcher in seiner Untersuchung während der Früh lactation eine Rückenfettdickenabnahme um 10,3 mm beobachtete. Nach STAUFENBIEL (1993) ist eine Rückenfettdickenabnahme bis zu 15 mm während der ersten 8 Wochen p.p. als physiologisch zu beurteilen. KUPSCH (2005) ist der Auffassung, dass die minimale Rückenfettdicke während der Früh lactation im Herdenmittel 14 mm nicht unterschreiten sollte, da sonst mit Leistungseinbußen zu rechnen wäre. Mit 14,2 mm am 56. Tag p.p. lässt sich die Gruppe mit hohem Leberfettgehalt genau in diesen Bereich einordnen, während die Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt mit 12,8 mm Rückenfettdicke demnach unterkonditioniert wäre. In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt wurden im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 56. Tag p.p. nur 3,9 mm Rückenfett abgebaut. Dies lässt sich auf die geringere Rückenfettdicke der Probanden, deren höhere Trockensubstanzaufnahme bei vergleichbarer Milchmengenleistung sowie das geringere Energiedefizit in dieser Gruppe zurückführen. Die Tatsache, dass in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt während der Früh lactation eine vergleichsweise größere Rückenfettdickenabnahme festgestellt wurde, bestätigt Literaturangaben (FERGUSON et al. 1991; INGVARTSEN et al. 1996; INGVARTSEN 2006; GARNSWORTHY 2007), nach denen der Umfang der Körperfettreserven zum Partus mit dem Ausmaß der Mobilisation peripheren Fettgewebes während der Früh lactation in einem positiven Zusammenhang steht. Bei überkonditionierten

Tieren ist zu Laktationsbeginn ein verminderter Appetit und damit eine entsprechend unzureichende freiwillige Trockensubstanzaufnahme festzustellen (SÜDEKUM 1999), was häufig zu einer überschießenden Lipolyse mit hohen Konzentrationen an freien Fettsäuren führt (ROSSOW 1990; ROSSOW 2003b).

Die Empfehlungen, die von STAUFENBIEL (1997) sowie STAUFENBIEL und SCHRÖDER (2004b,c) hinsichtlich der optimalen Kondition von Milchkühen zum Partus sowie von STAUFENBIEL (1993) sowie KUPSCH (2005) hinsichtlich der optimalen Rückenfettdickenentwicklung in der Früh-laktation gegeben wurden, konnten durch die eigenen Ergebnisse nicht bestätigt werden. So wurde in der eigenen Untersuchung bei den Probanden, die entsprechend dieser Empfehlungen sowohl zum Partus als auch während der Früh-laktation unterkonditioniert waren, bei vergleichbarer Milchmengenleistung eine geringere metabolische Belastung sowie ein früheres Wiedereinsetzen der Ovarfunktion p.p. als bei den Probanden, die während der Untersuchung die empfohlene Kondition aufwiesen, festgestellt. Die von STAUFENBIEL (1993), STAUFENBIEL (1997), STAUFENBIEL und SCHRÖDER (2004b,c) sowie KUPSCH (2005) gegebenen Empfehlungen beziehen sich auf Untersuchungen, die an Kreuzungstieren der Rassen Schwarzbuntes Milch-rind und Holstein-Friesian mit entsprechend geringerem Milchleistungsniveau durchgeführt wurden. Die Probanden der eigenen Studie haben eine vergleichsweise höhere Milchleistung, was mit einer entsprechend höheren Stoffwech-selleistung der Tiere assoziiert ist. Daher werden die eigenen Ergebnisse als ein Hinweis interpretiert, dass überprüft werden sollte, ob der Anstieg des genetisch determinierten Milchleistungsniveaus möglicherweise Anpassungen bei den Empfehlungen hinsichtlich der optimalen Konditionierung der Tiere notwendig macht.

Im Untersuchungszeitraum (7. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) wurde in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt eine signifikant größere ( $p < 0,01$ ) Trockensubstanzaufnahme als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt festgestellt.

Die geringste antepartale Trockensubstanzaufnahme wurde in den Gruppen jeweils am 7. Tag a.p., die geringste postpartale Trockensubstanzaufnahme jeweils am 14. Tag p.p. ermittelt. Die Tatsache, dass die geringsten TS-Aufnahmen in den Gruppen jeweils um den Partus festgestellt wurden, lässt sich auf den für Milchkühe typischen Abfall der TS-Aufnahme in Annäherung an den Partus (BERTICS et al. 1992; INGVARTSEN et al. 1992; GRUMMER 1995; DOEPEL et al. 2002; HAYIRLI et al. 2003; NOCEK et al. 2003; FRENCH 2006) zurückführen. Auch die in beiden Gruppen festgestellte Zunahme der Trockensubstanzaufnahme bis zum 56. Tag entspricht der für Milchkühe typischen Entwicklung der TS-Aufnahme p.p. (STAUFENBIEL 1989; LUCY et al. 1991; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; BLOCK et al. 2001; DOEPEL et al. 2002; GRUMMER et al. 2004; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b).

Eine hohe präpartale Trockensubstanzaufnahme war mit einer hohen postpartalen Trockensubstanzaufnahme assoziiert. Dieses Ergebnis wird auch durch die Studie von ORDWAY et al. (2002), die eine positive Korrelation ( $r = 0,69$ ;  $p < 0,001$ ) zwischen der Trockensubstanzaufnahme eine Woche a.p. und der Trockensubstanzaufnahme während der ersten 56 Laktationstage ausweist, bestätigt. GRUMMER et al. (2004) vermuten, dass die positive Korrelation zwischen antepartaler und postpartaler Trockensubstanzaufnahme bei ad libitum Fütterung (GRUMMER 1995) unabhängig vom Gestations- und Laktationszyklus genetisch determiniert ist.

Bei der Modulation der peripartalen Trockensubstanzaufnahme von Milchkühen sind sowohl der Umfang der Körperfettreserven als auch deren Abbau im geburtsnahen Zeitraum von zentraler Bedeutung (GARNSWORTHY und TOPPS 1982; GRUMMER 1993; McNAMARA 2000). So stehen die präpartale Kondition und die Trockensubstanzaufnahme in der Früh-laktation bei Hochleistungskühen in einem umgekehrt proportionalen Zusammenhang (GRUMMER 1995; HOLTER et al. 1990; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; HAYIRLI et al. 2002, STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b). Dies bestätigen auch die eigenen Ergebnisse. Die Probanden in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt verfügten antepartal über größere Körperfettreserven und

realisierten eine geringere Trockensubstanzaufnahme als die Probanden mit niedrigem Leberfettgehalt, welche antepartal geringer konditioniert waren.

Darüber hinaus vermuten einige Autoren (INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; ALLEN et al. 2005; VERNON 2005), dass die Konzentration von freien Fettsäuren sowie Betahydroxybutyrat bei Hochleistungskühen Mechanismen direkt oder indirekt beeinflusst, die wichtig bei der Regulation der TS-Aufnahme im geburtsnahen Zeitraum sind. So gehen INGVARTSEN und ANDERSEN 2000, HAYIRLI et al. 2002 sowie OHGI et al. 2005 davon aus, dass ansteigende Konzentrationen von freien Fettsäuren und Betahydroxybutyrat einen negativen Einfluss auf die peripartale TS-Aufnahme haben. Dies wird insofern auch durch die eigenen Ergebnisse unterstützt, als dass in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt neben einer geringeren Trockensubstanzaufnahme höhere Konzentrationen von freien Fettsäuren sowie Betahydroxybutyrat festgestellt wurden.

Die anhand des Leberfettgehaltes gruppierten Probanden unterschieden sich im Untersuchungszeitraum (14. - 56. Tag p.p.) nicht signifikant ( $p=0,4$ ) hinsichtlich der fettkorrigierten Milchmenge.

Ein vergleichbares Ergebnis zeigte auch die Studie von OHGI et al. (2005). Die Autoren fanden bei Milchkühen, welche anhand ihres Leberfettgehaltes (Gesamtlipidgehalt in der 2. Laktationswoche) als normal (LFG < 10 %), mild (LFG < 20 %) bzw. moderat (LFG  $\geq$  20 %) gruppiert wurden, zwischen der 1. und 8. Laktationswoche zu keinem Zeitpunkt eine unterschiedliche, fettkorrigierte Milchmengenleistung. Auch die Gruppe mit moderatem Leberfettgehalt unterschied sich, mit Ausnahme einer höheren fettkorrigierten Milchmenge in der 1. Woche p.p., im Untersuchungszeitraum nicht von der Gruppe mit normalem Leberfettgehalt.

Mit dem Einsetzen der Laktation werden insbesondere bei den auf hohe Milchleistung selektierten Milchkühen Energie und Nährstoffe, selbst dann, wenn sich deren Verfügbarkeit vermindert, prioritär in Richtung Milchdrüse geleitet (BAUMAN und CURRIE 1980; BLUM 1992; BLUM 2004; STANGASSINGER 2006). Die Tatsache, dass Milchkühe trotz differenter Stoffwechselbelastung eine vergleichbare Milchmengenleistung realisieren

können, weist darauf hin, dass die Stoffwechselfriorität der Milchdrüse auch dann aufrechterhalten bleibt, wenn die Stoffwechselsituation innerhalb eines gewissen Toleranzbereiches variiert. Die eigenen Ergebnisse lassen vermuten, dass sich die metabolische Belastung der Probanden innerhalb eines solchen physiologisch tolerierbaren Bereiches befand und die Milchproduktion gegenüber anderen extramammären energie- und nährstoffintensiven Prozessen prioritär war.

In Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren (STAUFENBIEL 1989; LUCY et al. 1991; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b) wurde auch in der eigenen Untersuchung die höchste Milchmengenleistung zwischen der 4. - 7. Laktationswoche und damit früher als die maximale Trockensubstanzaufnahme festgestellt.

Im Untersuchungszeitraum (14. - 56. Tag p.p.) wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt ein signifikant höherer ( $p < 0,01$ ) Milchfettgehalt festgestellt, während sich der Milcheiweißgehalt zwischen den Gruppen nicht signifikant ( $p = 0,12$ ) unterschied. Damit werden die Ergebnisse von OHGI et al. (2005) bestätigt. Die Autoren stellten bei Milchkühen mit moderatem Leberfettgehalt einen höheren Milchfettgehalt (1. - 4. Woche p.p.) sowie eine höhere Milchfettleistung (1. - 2. Woche p.p.) als bei Tieren mit normalem Leberfettgehalt fest, während sich der Milcheiweißgehalt zwischen den Gruppen nicht unterschied. Der höhere Milchfettgehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt ist auf die generell größeren Körperfettreserven, den stärkeren Konditionsabbau in der Frühphase der Laktation sowie die damit assoziierte höhere Konzentration freier Fettsäuren zurückzuführen. So treten insbesondere bei Milchkühen mit größeren Fettreserven in der Frühphase der Laktation größere Konzentrationen freier Fettsäuren auf, wodurch die Milchfettsynthese forciert wird (PEDRON et al. 1993, HEUER et al. 1999; BLUM 2004; OHGI et al. 2005; VERNON 2005). Ein starker Konditionsverlust während der Frühphase der Laktation geht mit höheren Milchfett- und geringeren Milcheiweißgehalten einher (BOISCLAIR et al. 1986; KESSEL et al. 2008). Nach STAUFENBIEL et al. (1989b) erhöht sich mit verstärktem Körperfettabbau sowohl die Milchfettmengenleistung als auch der Milchfettgehalt.

In der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt wurde im Untersuchungszeitraum ein signifikant größerer ( $p < 0,05$ ) Laktosegehalt festgestellt. Darüber hinaus wurde in beiden Gruppen, wie der signifikante Zeiteffekt belegt, ein typischer Anstieg der Laktosekonzentration zu Laktationsbeginn (GRABOWSKI 2000; REIST et al. 2003; BEERDA et al. 2007) beobachtet. Der höhere Laktosegehalt in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt wird auf die tendenziell höhere Glucosekonzentration in dieser Gruppe zurückgeführt. So stellten PATTON et al. (2004) bei Milchkühen mit einer höheren Glucosekonzentration einen tendenziell höheren Laktosegehalt fest. Dies bestätigen indirekt auch die Ergebnisse von REIST et al. (2003), nach denen ein höherer Konzentratanteil in der Ration neben einer höheren Glucosekonzentration auch mit einem höheren Laktosegehalt assoziiert ist.

Im Untersuchungszeitraum (14. - 56. Tag p.p.) war die negative Energiebilanz in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größer ( $p < 0,05$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt.

Damit bestätigen die eigenen Ergebnisse die Angabe von GRUMMER (1993) sowie INGVARTSEN und ANDERSEN (2000), nach denen bei Milchkühen eine starke Körperkondition zum Partus sowie der damit einhergehende, starke Konditionsabbau in der Frühphase der Laktation mit einem hohen postpartalen Energiedefizit assoziiert ist. Am 14. Tag p.p. war das energetische Defizit mit 64,86 MJ NEL in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt bzw. 27,49 MJ NEL in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt in den Gruppen jeweils am größten. Dies unterstützt die Angaben von GRUMMER (1995), nach denen das Maximum des Energiedefizits in der ersten Woche p.p. zu erwarten ist. Die Höhe des Energiedefizits in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt deckt sich mit den Angaben von LUCY et al. (1991) und JORRITSMA et al. (2005), nach deren Ergebnissen die tägliche Energiebilanz bei Hochleistungskühen bis zu -63 MJ NEL betragen kann. Die Tatsache, dass die Probanden der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt ein vergleichsweise größeres Energiedefizit aufwiesen, lässt sich dadurch erklären, dass die Tiere bei vergleichbarer, fettkorrigierter Milchmengenleistung eine geringere Trockensubstanzaufnahme realisierten. Das Ergebnis unterstützt die Beobachtungen anderer Autoren, nach denen das

Ausmaß der negativen Energiebilanz in der Früh lactation stärker von der Depression des Trockensubstanzaufnahmevermögens als von der Milchleistung beeinflusst wird (VILLA-GODOY et al. 1988; SPICER et al. 1990; LUCY et al. 1991; NEBEL und MCGILLARD 1993).

Die Probanden beider Gruppen befanden sich am 56. Tag p.p. noch in der Phase mit negativer Energiebilanz. Dies entspricht den Angaben in der Literatur, nach denen die Dauer der negativen Energiebilanz im Durchschnitt mit 8 Wochen (BOISCLAIR et al. 1986; BERGHORN et al. 1988; STAPLES et al. 1990; DOMECCQ et al. 1997a) angegeben wird, jedoch zwischen 5 Wochen (BUTLER und SMITH 1989) und 16 Wochen (BUTLER und ELROD 1992) variieren kann. Dass der Ausgleich der Energiebilanz in beiden Gruppen erst nach der 8. Woche p.p. erreicht wurde, ist auf die hohe Milchleistung der Probanden zurückzuführen. So verschiebt sich nach Angaben von GALLO et al. (1996) der Wiedereintritt in den Bereich der positiven Energiebilanz bei Hochleistungstieren vom 3. auf den 4. Laktationsmonat. Bei multiparen Hochleistungskühen stellten REIST et al. (2003), HORSTMANN (2004) sowie OCYLOK (2007) eine ausgeglichene bzw. positive Energiebilanz ab der 10., 9. bzw. 8. Laktationswoche fest.

Die Ausprägung der zootecnischen Parameter in den Untersuchungsgruppen zeigt, dass die Probanden mit der höheren metabolischen Belastung bzw. dem höheren Leberfettgehalt im Untersuchungszeitraum stärker konditioniert waren und bei einer vergleichbaren Milchmengenleistung ein geringeres Trockensubstanzaufnahmevermögen aufwiesen, woraus ein stärkeres Energiedefizit resultierte, das während der Früh lactation durch eine stärkere Mobilisation von Körperfett kompensiert wurde. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass bei Milchkühen mit sehr hohen Leistungen das Ausmaß der Stoffwechselbelastung entscheidend durch die Kondition im geburtsnahen Zeitraum und das damit assoziierte Trockensubstanzaufnahmevermögen beeinflusst wird.

### 5.2.2 Stoffwechselmetabolite

Im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt eine signifikant höhere ( $p < 0,01$ ) Konzentration freier Fettsäuren als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt festgestellt.

Die höhere Konzentration des Metaboliten weist auf eine vergleichsweise stärkere Körperfettmobilisation (PULLEN et al. 1989; CHIESA et al. 1991; GOFF und HORST 1997) in der Gruppe hin, was darüber hinaus sowohl durch die stärkere Rückenfettdickenabnahme als auch durch die höhere Konzentration von Betahydroxybutyrat bestätigt wird (KESSEL et al 2008). Damit unterstützen die eigenen Untersuchungsergebnisse die Beobachtungen anderer Autoren (KOKKONEN et al. 2005; OHGI et al. 2005), nach denen insbesondere Milchkühe mit größeren Körperfettreserven eine größere Menge Körperfett mobilisieren und entsprechend höhere Konzentrationen freier Fettsäuren aufweisen.

Die höchsten Konzentrationen freier Fettsäuren wurden während der 1. und 2. Woche p.p., dem Zeitraum, in dem die geringste Trockensubstanzaufnahme, das größte Energiedefizit sowie der stärkste Konditionsabbau festgestellt wurde, ermittelt. Ähnliche Zusammenhänge werden in der Literatur beschrieben. Je stärker die präpartale Futtermittelaufnahme reduziert wird, desto intensiver ist die Freisetzung von Fettsäuren aus den Körperfettdepots (CADORNIGA-VALIÑO et al. 1997; ROSSOW 2003b). Die Konzentration freier Fettsäuren korreliert negativ mit der Trockensubstanzaufnahme (GRUMMER 1993; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; DOEPEL et al. 2002) sowie der Energiebilanz (PULLEN et al. 1989; REIST et al. 2000,2002; BUSATO et al. 2002; DOEPEL et al. 2002).

In beiden Gruppen wurde bereits antepartal ein Anstieg der Konzentration freier Fettsäuren beobachtet, was auf eine bereits vor dem Partus einsetzende Mobilisation von Körperfett hinweist, wie sie auch von anderen Autoren (STANGASSINGER et al. 1983; GRUMMER 1993; GRUMMER 1995; ROSSOW 2003b) beschrieben wurde.

Im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt eine signifikant höhere ( $p < 0,01$ ) Konzentration von Betahydroxybutyrat als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt festgestellt. Ein höherer Leberfettgehalt bzw. eine höhere Stoffwechselbelastung der Probanden war somit, neben einer höheren Konzentration freier Fettsäuren, auch mit einer höheren Konzentration von Betahydroxybutyrat assoziiert, was im Zusammenhang mit dem stärkeren Rückenfettdickenabbau die stärkere Körperfettmobilisation in dieser Gruppe widerspiegelt. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Autoren insofern, als dass REIST et al. (2002) eine negative Korrelation zwischen der Energiebilanz und der Konzentration freier Fettsäuren ( $r = -0,685$ ) sowie der Konzentration von Betahydroxybutyrat ( $r = -0,451$ ) ermittelten und auch SATO et al. (1999), BUSATO et al. (2002), WATHES et al. (2007) sowie KESSEL et al. (2008) in der Frühaktation einen proportionalen Anstieg der Konzentrationen beider Metabolite feststellten.

Nach FÜRLLE et al. (1998) und JORRITSMA et al. (2003a) ist der Ketonkörper Betahydroxybutyrat ein Indikator für Imbalancen im Energiestoffwechsel, wobei höhere Konzentrationen eine Energiemangelsituation anzeigen (FÜRLLE 2004, 2005). Dies bestätigen auch die eigenen Ergebnisse. So war eine höhere BHB-Konzentration auch mit einem größeren Energiedefizit, einer höheren Konzentration freier Fettsäuren sowie einem höheren Leberfettgehalt assoziiert. Die höchste Konzentration des Ketonkörpers wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt am 14. Tag p.p. und damit 1 Woche nach dem Erreichen der maximalen Konzentration freier Fettsäuren gemessen. Zu den gleichen Ergebnissen kamen TEUFEL (1999) und BUSATO et al. (2002), die in ihren Studien ebenfalls eine maximale BHB-Konzentration 1 Woche nach der maximalen Konzentration freier Fettsäuren feststellten. KAUPPINEN (1983) gibt den Zeitraum für die maximale Konzentration freien Fettsäuren mit der 1. - 2. Woche p.p., für die maximale Konzentration von Betahydroxybutyrat mit der 2. - 6. Woche p.p. an.

Im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) wurde in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt eine tendenziell höhere ( $p = 0,1$ ) Glucosekonzentration als in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt festgestellt. Der

Konzentrationsunterschied wird durch die höheren Konzentrationen des Metaboliten in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt im Zeitraum zwischen dem 7. und 56. Tag p.p. bedingt.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte auch die Studie von OHGI et al. (2005). Die Autoren stellten in der Gruppe mit normalem Leberfettgehalt im Zeitraum zwischen der 1. und 3. Woche p.p. eine höhere Glucosekonzentration als in der Gruppe mit erhöhtem Leberfettgehalt fest. Die niedrige Glucosekonzentration bei Milchkühen mit hoher Stoffwechselbelastung bzw. hohem Leberfettgehalt wird auf den stärkeren Energiemangel bzw. den damit assoziierten, geringeren hepatischen Glucoseoutput zurückgeführt. Aufgrund des niedrigeren Trockensubstanzaufnahmevermögens ist die Verfügbarkeit von Propionat, dem Haupt-Precursor der hepatischen Gluconeogenese (LEAN et al. 1992; SEAL und REYNOLDS 1993; DRACKLEY et al. 2001; GEELEN und WENSING 2006), bei den Probanden mit hohem Leberfettgehalt stärker als bei den Probanden mit niedrigem Leberfettgehalt limitiert. Da der hepatische Glucoseoutput sich direkt proportional zur Propionatverfügbarkeit verhält (LOMAX et al. 1979; BAIRD et al. 1980), weisen die Probanden mit hohem Leberfettgehalt bei vergleichbarer Milchmengenleistung eine geringere Glucosekonzentration auf.

Die Glucosekonzentration folgte in beiden Gruppen einem ähnlichen Verlaufsmuster, was sich in einem signifikanten Zeiteffekt widerspiegelt. Auf hohe, präpartale Ausgangskonzentrationen folgte ein starker Abfall der Glucosekonzentration während der 1. - 2. Laktationswoche, bevor diese anschließend bis zum 56. Tag p.p. wieder annähernd das jeweilige Ausgangsniveau annahm. Der Konzentrationsverlauf beider Gruppen deckt sich mit den bei KUNZ et al. (1985), VAZQUEZ-AÑON et al. (1994), REIST et al. (2003), HOLTENIUS et al. (2003), KOLLER et al. (2003), INGVARTSEN et al. (2003), JUCHEM et al. (2004), JORRITSMA et al. (2005), BUTLER et al. (2006) sowie BOSSAERT et al. (2008) ermittelten Verlaufsmustern.

Der starke Konzentrationsabfall unmittelbar nach dem Partus ist mit dem sprunghaft ansteigenden, mammären Glucosebedarf (BICKERSTAFFE et al. 1974; BELL 1995a; OVERTON 1998; DRACKLEY et al. 2001; NAFIKOV et al.

2006) bei einer gleichzeitig noch unzureichenden Trockensubstanzaufnahme (STAUFENBIEL 1989; STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004b; DE FRAIN et al. 2004; TAMMINGA 2006) bzw. der damit einhergehenden verminderten Verfügbarkeit von Propionat (REYNOLDS et al. 2003; BROCKMAN 2005) zu erklären.

### 5.2.3 Hormone

Die Gruppen unterschieden sich im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) nicht signifikant ( $p=0,96$ ) hinsichtlich der Insulinkonzentration.

Dass ausschließlich der Tag einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtvarianz des statistischen Modells hatte, zeigt, dass die Insulinkonzentration, unabhängig von der peripartalen Stoffwechselbelastung bzw. vom Leberfettgehalt, einem typischen Verlaufsmuster folgte. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (BLUM 1992; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000; VERNON 2002; DOEPEL et al. 2002; HOLTENIUS et al. 2003; REIST et al. 2003; REYNOLDS et al. 2003; BOSSAERT et al. 2008) wurde auch in der eigenen Untersuchung bereits vor dem Partus ein starker Abfall der Konzentration festgestellt, dem geringe Konzentrationen während der 1. und 2. Woche p.p. und ein sich daran anschließender, allmählicher Konzentrationsanstieg folgten. Obwohl sich die Gruppen hinsichtlich des Energiedefizits sowie des Umfangs der Körperfettmobilisation unterschieden, war die Insulinkonzentration in den Gruppen nicht unterschiedlich. Damit stehen die eigenen Ergebnisse im Kontrast zu den Studien von DISKIN et al. (2003) sowie REIST et al. (2003), die während der Frühlaktation einen positiven Zusammenhang zwischen der Insulinkonzentration und der Energiebilanz ausweisen. Die vergleichbare Insulinkonzentration in den Gruppen ist vermutlich auf eine vergleichsweise größere Insulinresistenz im Fettgewebe in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt zurückzuführen. So erhöht sich bei Milchkühen in der Frühlaktation bzw. nach induzierter Leberverfettung oder Hyperlipidämie mit dem Anstieg der Insulinresistenz die Lipolyse in den Fettgeweben und führt zur verstärkten Freisetzung von nichtveresterten Fettsäuren (BELL 1995a; OIKAWA und OETZEL 2006; PIRES et al. 2007).

Die Glucagonkonzentration unterschied sich im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) zwischen den Gruppen nicht signifikant ( $p=0,18$ ) voneinander. Ausschließlich der Tag beeinflusste die Gesamtvarianz des statistischen Modells signifikant.

Dies zeigt, dass sich die Glucagonkonzentration während der Untersuchung, unabhängig von der Belastung des Stoffwechsels bzw. vom Leberfettgehalt, in einem typischen Verlaufsmuster entwickelte. Mit dem Partus wurde bei den Probanden, in Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren (DE BOER et al. 1985; HERBEIN et al. 1985; INGVARTSEN und ANDERSEN 2000), ein typischer Anstieg der Glucagonkonzentration beobachtet. Ausgelöst durch den mit der einsetzenden Laktation sprunghaft ansteigenden Glucosebedarf (BELL 1995a; HERDT 2000; DRACKLEY et al. 2001), ermöglicht die ansteigende Konzentration an Glucagon durch dessen stimulierende Wirkung auf die Gluconeogenese und die Glykogenolyse eine Erhöhung des hepatischen Glucoseoutputs (WILLIAMS et al. 2006). Der in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant größere ( $p<0,05$ ) Relationswert des Glucagon/Insulin-Verhältnisses, eine Hormonkonstellation, die stimulierend auf die Gluconeogenese wirkt (UNGER 1972; BROCKMAN 1978; STANGASSINGER 1997), weist im Zusammenhang mit der geringeren Glykogenkonzentration und der tendenziell geringeren Glucosekonzentration darauf hin, dass trotz forcierter Glykogenolyse und einer die hepatische Glucosesynthese und den hepatischen Glucoseoutput fördernden Hormonkonstellation ein relativer Glucosemangel vorlag.

Im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) unterschied sich die IGF-1-Konzentration nicht signifikant ( $p=0,66$ ) zwischen den Gruppen. Lediglich der Tag hatte einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtvarianz des statistischen Modells.

Unabhängig von der Gruppe zeigte die IGF-1-Konzentration im geburtsnahen Zeitraum einen charakteristischen Verlauf. Ähnlich den Ergebnissen anderer Autoren (REIST et al. 2003; BUTLER et al. 2006; LLEWELLYN et al. 2007) wurde im Zeitraum zwischen der 3. Woche a.p. und der 1. Woche p.p. ein Konzentrationsabfall sowie nachfolgend eine Konzentrationszunahme

festgestellt. In Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur (BUTLER et al. 2003; REIST et al. 2003) bestätigt auch die eigene Untersuchung einen engen Zusammenhang zwischen der Insulin- und IGF-1-Konzentration.

Die IGF-1-Konzentration spiegelt den metabolischen Status wider (CHIESA et al. 1991; BEAM und BUTLER 1999). Die Konzentration des Hormons wird durch die Energiebilanz beeinflusst (FORMIGONI und TREVISI 2003; BUTLER 2003). Ein größeres, postpartales Energiedefizit ist mit einer niedrigen IGF-1-Konzentration assoziiert (SPICER et al. 1990; McGUIRE et al. 1995b).

Davon abweichend lassen die Ergebnisse der eigenen Untersuchung nicht auf einen direkten Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Energiedefizits und der IGF-1-Konzentration schließen. Zwar wurde bei den eigenen Probanden im Zeitraum zwischen dem Partus und dem 14. Tag p.p. jeweils sowohl das größte energetische Defizit als auch die geringste IGF-1-Konzentration festgestellt, jedoch unterschied sich die IGF-1-Konzentration zwischen den Gruppen nicht voneinander, obgleich das energetische Defizit in den Gruppen deutlich unterschiedlich war. Es wird daher festgestellt, dass, abweichend von den Ergebnissen anderer Autoren (SPICER et al. 1990; McGUIRE et al. 1995b; CHIESA et al. 1991; BEAM und BUTLER 1999; FORMIGONI und TREVISI 2003; BUTLER 2003), die IGF-1-Konzentration in der eigenen Studie kein Indikator des metabolischen Status bzw. der metabolischen Belastung der Probanden war, was vermutlich mit dem engen Zusammenhang zum Insulin-Status (BUTLER et al. 2003; REIST et al. 2003) zu begründen ist.

Die Gruppen unterschieden sich im Untersuchungszeitraum (20. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) nicht signifikant ( $p=0,68$ ) hinsichtlich der Leptinkonzentration. Die Gesamtvarianz des statistischen Modells wurde ausschließlich durch den Tag signifikant beeinflusst.

Die Leptinkonzentration der Probanden zeigte im Untersuchungszeitraum, unabhängig von der Versuchsgruppe, eine für multipare Milchkühe charakteristische Entwicklung (BLOCK et al. 2001, REIST et al. 2003; LIEFERS et al. 2003; HOLTENIUS et al. 2003; KOKKONEN et al. 2005; CHILLIARD et al. 2005; KESSEL et al. 2008). Auf eine hohe Konzentration am 21. Tag a.p. folgte ein starker Konzentrationsabfall, bevor im Zeitraum zwischen dem Partus und

dem 14. Tag p.p. die geringste Konzentration festgestellt wurde. Bis zum 28. Tag p.p. erhöhte sich die Konzentration des Hormons leicht, um bis zum 56. Tag p.p. wieder auf das Niveau um den Partus zurückzufallen. Im geburtsnahen Zeitraum korreliert die Leptinkonzentration mit dem BCS (EHRHARDT et al. 2000; WATHES et al. 2007). MEIKLE et al. (2004) stellten bei multiparen Milchkühen, die zum Partus einen BCS > 3,0 aufwiesen, eine höhere Leptinkonzentration als bei den Kontrolltieren mit einem BCS < 3,0 fest. Nach CHILLIARD et al. (2001) lässt sich bei Wiederkäuern die Variation der Leptinkonzentration im geburtsnahen Zeitraum zu großen Teilen mit dem Körperfettabbau erklären.

Im Gegensatz dazu lässt sich aus den eigenen Ergebnissen kein direkter Zusammenhang zwischen der Rückenfettdicke und der Leptinkonzentration ableiten. Bei den Probanden wurde zwar parallel zur Abnahme der Rückenfettdicke auch eine Verminderung der Leptinkonzentration festgestellt, jedoch unterschied sich die Hormonkonzentration zwischen den Gruppen nicht voneinander, obgleich sowohl die absolute Rückenfettdicke als auch die Rückenfettdickenabnahme zwischen den Gruppen differierten. Eine mögliche Ursache für die vergleichbare Leptinkonzentration in den Gruppen ist in der unterschiedlichen Trockensubstanzaufnahme zu sehen. So stellten LIEFERS et al. (2003) bei Milchkühen im geburtsnahen Zeitraum einen positiven Zusammenhang zwischen der Trockensubstanzaufnahme und der Leptinkonzentration fest. Auch CHELIKANI et al. (2004) beobachteten bei Milchkühen infolge einer Futterrestriktion eine Verminderung der Leptinkonzentration. Darüber hinaus gibt es in der Literatur Hinweise darauf, dass nicht die Ernährungssituation allein, sondern die Konstellation zwischen dem Nährstoffangebot und den Körperfettreserven die Leptinkonzentration beeinflussen. So konnten HENRY et al. (2004) bei Schafen und DELAVAUD et al. (2002) bei Milchkühen zeigen, dass sich infolge einer Futterrestriktion die Leptinkonzentration nur bei fetten Tieren, jedoch nicht bei Tieren mit geringen Körperfettreserven vermindert. Entsprechend wird vermutet, dass die höhere Trockensubstanzaufnahme im Zusammenhang mit den geringeren Körperfettreserven in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt gegenüber der

Gruppe mit hohem Leberfettgehalt einen kompensatorischen Effekt hinsichtlich der Leptinkonzentration hatte, aus dem in den Gruppen, trotz differenter Rückenfettdicke, vergleichbare Leptinkonzentrationen resultierten.

#### **5.2.4 Leberparameter**

Während der ersten 3 Wochen p.p. wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt ein signifikant höherer ( $p < 0,01$ ) Leberfettgehalt als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt festgestellt, was auf die retrospektive Gruppenbildung, die anhand des mittleren Leberfettgehaltes aller Untersuchungszeitpunkte vorgenommen wurde, zurückzuführen ist.

In beiden Gruppen wurde zwischen dem 1. und 10. Tag p.p. ein Anstieg und nachfolgend bis zum 21. Tag p.p. ein Abfall des Leberfettgehaltes beobachtet. Damit spiegeln auch die eigenen Ergebnisse den für Milchkühe typischen Verlauf (VAN DEN TOP et al. 1995, 1996; UNDERWOOD 2003; GEELEN und WENSING 2006; NAFIKOV et al. 2006; DUSKE et al. 2009) des postpartalen Leberfettgehaltes wider.

Wird die Definition von OHGI et al. (2005) zugrunde gelegt, ist der Leberfettgehalt in der Gruppe mit niedriger Stoffwechselbelastung als mild, in der Gruppe mit hoher Stoffwechselbelastung als moderat zu beurteilen.

Die Ausprägung der zootechnischen Parameter sowie die Konzentrationen der Stoffwechselmetabolite und -hormone in den Gruppen bestätigen Literaturangaben, nach denen die Ausprägung eines großen Körperfettdepots in Geburtsnähe (FÜRLL 1997; HERDT 1988a; RUKKWAMSUK et al. 1998; 1999e), eine geringe Trockensubstanzaufnahme im geburtsnahen Zeitraum (BERTICS und GRUMMER 1999), ein starkes postpartales Energiedefizit (REID et al. 1980; GEELEN und WENSING 2006) sowie eine hohe NEFA- und geringe Glucosekonzentration (VEENHUIZEN et al. 1991) eine Milchkuh für einen hohen Leberfettgehalt prädisponiert.

Während der ersten 3 Wochen p.p. war der Glykogengehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt signifikant geringerer ( $p < 0,01$ ) als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt.

Dass ein hoher Leberfettgehalt bzw. eine hohe Stoffwechselbelastung mit einem niedrigen Glykogengehalt der Leber assoziiert ist, lässt sich auch aus den Ergebnissen anderer Autoren ableiten. So wurde festgestellt, dass ein geringer hepatischer Glykogengehalt sowie eine geringe Insulinkonzentration auf eine verminderte Glucoseverfügbarkeit während eines starken Energiedefizits hindeuten und mit dem Anstieg des Leberfettgehaltes einhergehen (AMARAL-PHILLIPS et al. 1993; HOLTENIUS 1993; REID et al. 1983; REID und ROBERTS 1983; RUKKWAMSUK et al. 1999c; STUDER et al. 1993; VAN DEN TOP et al. 1995; DRACKLEY und ANDERSEN 2006). Es wird daher vermutet, dass der geringere Glykogengehalt in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt damit zu begründen ist, dass das Glykogendepot der Leber aufgrund des relativen Glucosemangels mobilisiert wurde, um den hepatischen Glucoseoutput zu erhöhen. Auf eine verstärkte Glykogenolyse weist darüber hinaus sowohl der größere Relationswert des Glucagon/Insulin-Verhältnisses als auch die höhere Genexpression für G6Pase in der Gruppe hin.

Während der ersten 3 Wochen p.p. war in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt eine signifikant größere ( $p < 0,05$ ) Menge Pyruvatcarboxylase-mRNA als in der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt exprimiert.

Die höhere Genexpression für PC weist darauf hin, dass die Probanden mit hohem Leberfettgehalt während der Frühphase der Laktation zur Gluconeogenese verstärkt Pyruvat, Lactat sowie glucogene Aminosäuren nutzten (BAIRD et al. 1980; JITRAPAKDEE und WALLACE 1999; GREENFIELD et al. 2000; HARTWELL et al. 2001; VELEZ und DONKIN 2004). Dies ist, wie die Untersuchungen von VELEZ und DONKIN (2000, 2005) zeigten, auf die geringere Trockensubstanzaufnahme in der Gruppe zurückzuführen und lässt sich mit der damit assoziierten Verminderung der Propionatverfügbarkeit (MARTIN et al. 2001; AGCA et al. 2002; REYNOLDS et al. 2003; BROCKMAN 2005; HONG-MEI et al. 2005; KARCHER et al. 2007) erklären. Die eigenen Ergebnisse lassen vermuten, dass der Umfang, in dem in der Frühphase der Laktation bei der Gluconeogenese Propionat durch verstärkte Nutzung alternativer Glucoseprecursoren (Pyruvat, Lactat, glucogene Aminosäuren) substituiert wird, von der Propionatverfügbarkeit abhängt.

Die größere PC mRNA-Menge bestätigt im Zusammenhang mit der tendenziell geringeren Glucosekonzentration sowie dem größeren Relationswert für das Glucagon/Insulin-Verhältnis in der Gruppe die Vermutungen anderer Autoren, wonach der Anstieg der Transkriptionsrate eine Folge des ansteigenden Glucosebedarfes ist (GREENFIELD et al. 2000; HARTWELL et al. 2001; DRACKLEY et al. 2005; BRADFORD und ALLEN 2005) und durch den Abfall der Glucosekonzentration sowie die damit einhergehende Verminderung des Insulin/Glucagon-Verhältnisses verursacht wird (DONKIN 1999; BRADFORD und ALLEN 2005). Darüber hinaus lässt sich die größere PC mRNA-Menge indirekt auch mit der höheren Konzentration von freien Fettsäuren sowie Betahydroxybutyrat in der Gruppe begründen. So gilt Acetyl-CoA, das bei der  $\beta$ -Oxidation freier Fettsäuren entsteht und entweder über den Citratzyklus vollständig oxidiert wird oder Ausgangssubstrat der Ketogenese ist, als allosterischer Aktivator der Pyruvatcarboxylase (ATTWOOD und KEECH 1984; SASAKI et al. 1984; LEMAGIGRE und ROUSSEAU 1994, STANGASSINGER und SALLMANN 2004; JITRAPAKDEE et al. 2006).

Da bei Milchkühen die exprimierte mRNA-Menge für PC und die Aktivität des Enzyms in einem positiven Zusammenhang (GREENFIELD et al. 2000; AGCA et al. 2002; DRACKLEY et al. 2006) stehen, sind die eigenen Beobachtungen auch eine indirekte Bestätigung der Ergebnisse von MURONDOTI et al. (2004). Die Autoren stellten fest, dass die PC-Aktivität bei Milchkühen, bei denen durch ein entsprechendes Fütterungsregime im peripartalen Zeitraum ein Anstieg des Leberfettgehaltes induziert wurde, im Zeitraum zwischen der 1. Woche a.p. und der 1. Woche p.p. um 308 %, in der Kontrollgruppe mit niedrigerem Leberfettgehalt jedoch nur um 77 % zunahm.

Während der ersten 3 Wochen p.p. unterschieden sich die exprimierten mRNA-Mengen sowohl für cytosolische PEPCK als auch für mitochondriale PEPCK nicht signifikant ( $p=0,67$  bzw.  $p=0,40$ ) zwischen den Gruppen.

In beiden Gruppen nahm die exprimierte PEPCK-C mRNA-Menge im Untersuchungszeitraum zu. Die Tatsache, dass ausschließlich der Tag einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtvarianz des statistischen Modells hatte, zeigt, dass die Zunahme der PEPCK-C mRNA-Menge unabhängig von der

Gruppe und damit unabhängig von der peripartalen Belastung des Stoffwechsels erfolgte. Einen Expressionsanstieg des PEPCK-Gens während der Frühaktation bestätigen auch die Ergebnisse von GREENFIELD et al. (2000) und KARCHER et al. (2007) für die cytosolischen Isoform des Enzyms und HARTWELL et al. (2001) sowie HONG-MEI et al. (2005) für die gesamte PEPCK, die sowohl die PEPCK-C als auch die PEPCK-M umfasst. Die Transkriptionsregulation der PEPCK-C erfolgt nährstoff- und hormonabhängig (AGCA et al. 2002). Bei isolierten Rattenhepatozyten stimulieren Propionat und weitere flüchtige Fettsäuren die Genexpression der PEPCK-C (MASSILLON et al. 2003). Auch bei Milchkühen wird ein Zusammenhang zwischen der Propionatverfügbarkeit und der Genexpression für die cytosolische PEPCK vermutet (KARCHER et al. 2007). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchung konnten diese Annahme nicht bestätigen. Die exprimierte PEPCK-C mRNA-Menge differierte zwischen den Gruppen nicht, obwohl sich die Trockensubstanzaufnahme und damit vermutlich auch die ruminale Propionatproduktion bzw. die Propionatverfügbarkeit in den Gruppen unterschied.

In der eigenen Untersuchung wurden, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von AGCA et al. (2002), im geburtsnahen Zeitraum neben der Zunahme der mRNA-Menge für die PEPCK-C keine Unterschiede bei der mRNA-Menge für die PEPCK-M festgestellt. Mit dem Ergebnis, dass die exprimierten mRNA-Mengen für PEPCK-M weder von der Gruppe noch vom Tag bzw. der Kombination beider Variablen signifikant beeinflusst wurde, bestätigt die eigene Untersuchung Literaturangaben, nach denen die Expressionsregulation für die mitochondriale PEPCK beim Wiederkäuer weder von der hormonellen Konstellation noch vom physiologischen Status abhängig ist (WELDON et al. 1990; SAVON et al. 1993). Entsprechend kann davon ausgegangen werden, dass eine Variation der totalen PEPCK mRNA größtenteils die Modulation der cytosolischen Isoform des Enzyms widerspiegelt. Diese Auffassung wird dadurch unterstützt, dass bei Milchkühen im geburtsnahen Zeitraum die PEPCK-Aktivität eng positiv mit der exprimierten PEPCK-C mRNA-Menge,

jedoch nicht mit der PEPCK-M mRNA-Menge korreliert (GREENFIELD et al. 2000; AGCA et al. 2002; DRACKLEY et al. 2006).

Vorausgesetzt, die Genexpression und die Enzymaktivität stehen in einem positiven Zusammenhang (GREENFIELD et al. 2000; AGCA et al. 2002; DRACKLEY et al. 2006), bestätigen die eigenen Ergebnisse nicht die Beobachtungen von RUKKWAMSUK et al. (1999c) sowie MURONDOTI et al. (2004), nach denen Milchkühe mit höherem Leberfettgehalt eine geringere PEPCK-Aktivität aufweisen als Kontrolltiere mit niedrigerem Leberfettgehalt.

Die Annahme von GREENFIELD et al. (2000), dass die Zunahme der exprimierten mRNA-Menge für PEPCK-C in der Früh lactation den Anstieg des mammären Glucosebedarfs widerspiegelt, wird durch die eigenen Ergebnisse insofern bestätigt, als dass in den Gruppen parallel zum Anstieg der exprimierten PEPCK-C mRNA-Menge die geringsten Glucosekonzentrationen festgestellt wurden. Nach KOLB (1989) sowie REYNOLDS et al. (2003) führt die Zunahme des mammären Glucosebedarfs in der Früh lactation zu einem Anstieg der Gluconeogenese rate bzw. des hepatischen Glucoseoutputs.

Während der ersten 3 Wochen p.p. wurde in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt eine tendenziell höhere ( $p=0,09$ ) Genexpression für G6Pase festgestellt.

Die größere G6Pase mRNA-Menge wird im Zusammenhang mit der tendenziell geringeren Glucosekonzentration sowie dem geringeren Glykogengehalt als Hinweis darauf interpretiert, dass die geringe Glucosekonzentration in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt mit einer verstärkten Glykogenolyse assoziiert war. So stellten BRADFORD und ALLEN (2005) bei Milchkühen, bei denen ein höherer, peripherer Glucosebedarf induziert wurde, eine höhere Genexpression für G6Pase als bei unbehandelten Kontrolltieren fest, während RUKKWAMSUK et al. (1999c) zeigen konnten, dass Milchkühe mit induzierter Leberverfettung in der Frühphase der Lactation neben einem geringeren Glykogengehalt eine tendenziell größere G6Pase-Aktivität als Kontrolltiere mit niedrigerem Leberfettgehalt aufweisen.

Obwohl in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt eine höhere Genexpression für die Schlüsselenzyme PC und G6Pase festgestellt wurde, lässt die

gegenüber der Gruppe mit niedrigem Leberfettgehalt unveränderte Genexpression für PEPCK insbesondere im Zusammenhang mit der vergleichsweise geringeren Glucosekonzentration bei vergleichbarer Milchmengenleistung vermuten, dass der hepatische Glucoseoutput in dieser Gruppe vergleichsweise geringer war.

Durch eine größere PC mRNA-Menge bzw. -aktivität wird die Bildung von Oxalacetat aus Pyruvat und damit die Nutzung der gluconeogenen Precursoren, Lactat und glucogene Aminosäuren, forciert, wobei gleichzeitig die Kapazität zur Ketogenese aus Nicht-Lipid-Precursoren vermindert wird (GREENFIELD et al. 2000). In welchem Umfang die generierte Oxalacetatmenge zur Gluconeogenese herangezogen wird, ist von der PEPCK-Aktivität abhängig. Wird, wie in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt festgestellt, die Zunahme der PC mRNA-Menge nicht von einem entsprechenden Anstieg der mRNA-Menge für PEPCK begleitet, steht mehr Oxalacetat als Reaktionpartner des während der  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren entstehenden Acetyl-CoA zur Verfügung, wodurch die Kapazität zur vollständigen Fettsäureoxidation zunimmt (GREENFIELD et al. 2000). Dementsprechend ist die höhere Genexpression für PC in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt auch als Hinweis auf eine verstärkte, hepatische Fettsäureoxidation zu interpretieren.

Im Vergleich der Gruppen zeigt die Ausprägung der spezifischen Genexpressionen der Schlüsselenzyme im Zusammenhang mit den Hormon- und Metabolitenkonzentrationen, dass ein höherer Leberfettgehalt bzw. eine höhere Stoffwechselbelastung mit Modulationen im hepatischen Lipid- und Glucosestoffwechsel assoziiert war. Es wird vermutet, dass die vergleichsweise niedrigere Trockensubstanzaufnahme bei vergleichbarem, mammären Glucosebedarf in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt zu einem relativen Propionat- bzw. Glucosemangel geführt hat, infolgedessen die Nutzung alternativer, gluconeogenetischer Precursoren zunahm und die Glykogenolyse forciert wurde. Darüber hinaus lassen die Ergebnisse vermuten, dass in der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt die Kapazität zur hepatischen Fettsäureoxidation vergleichsweise höher war.

### 5.2.5 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation

Von den 20 Probanden wurde bei 8 Tieren bzw. 40 % der Probanden bis zum 28. Tag p.p., bei 12 Tieren bzw. 60 % der Probanden ab dem 35. Tag p.p. ein erster messbarer Anstieg der Milchprogesteronkonzentration bzw. eine erste luteale Aktivität festgestellt. Darüber hinaus zeigt die signifikant differente Verteilung ( $p < 0,05$ ) der Häufigkeiten, mit der die Probanden der Untersuchungsgruppen in den Klassen „früh“ bzw. „später“ auftraten, dass die Probanden mit niedrigem Leberfettgehalt bzw. niedriger Stoffwechselbelastung vergleichsweise früher nach dem Partus eine erste luteale Aktivität aufwiesen.

Damit konnte, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (BUTLER et al. 1981; BOSTEDT et al. 1985; SCHOPPER et al. 1989; FERGUSON 1996; SHRESTHA et al. 2004a; PETERSSON et al. 2006; PATTON et al. 2007), auch in der eigenen Untersuchung gezeigt werden, dass bei der überwiegenden Anzahl der Milchkühe die erste Ovulation nach dem 30. Tag p.p. auftritt. Darüber hinaus lassen sich auch anhand der eigenen Ergebnisse Zusammenhänge zwischen der Stoffwechsellage im geburtsnahen Zeitraum und dem Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion in der Frühlaktation (BUTLER et al. 2003) ableiten. Ein positiver Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der negativen Energiebilanz und dem Intervall zwischen dem Partus und der ersten Ovulation nach dem Partus, wie er bereits von mehreren Autoren (BOSTEDT 1997; BUTLER und SMITH 1989; DE VRIES und VEERKAMP 2000; BUTLER 2000; BUTLER et al. 2006; PATTON et al. 2007) beschrieben wurde, wird indirekt auch durch die eigenen Ergebnisse bestätigt. Ein größeres Energiedefizit war mit einem späteren Wiedereinsetzen der Ovarfunktion, ein geringeres Energiedefizit mit einem vergleichsweise kürzeren Intervall zwischen dem Partus und dem Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion assoziiert. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von PATTON et al. (2007) ging auch in der eigenen Studie eine größere Trockensubstanzaufnahme während der Frühlaktation mit einem früheren Wiedereinsetzen der Ovarfunktion einher. Aufgrund der Tatsache, dass das differente Energiedefizit in den Gruppen stärker von der Trockensubstanzaufnahme als von der Milchmengenleistung bestimmt wurde,

unterstützen die eigenen Ergebnisse die Schlussfolgerung von PATTON et al. (2007), nach der die Trockensubstanzaufnahme diejenige Komponente der Energiebilanz darstellt, welche die Reproduktionsfunktionen in der Frühlaktation am stärksten beeinflusst. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von PATTON et al. (2006) sowie KAWASHIMA et al. (2007a) war auch in der eigenen Studie das vergleichsweise spätere Wiedereinsetzen der Ovarfunktion p.p. mit einem größeren postpartalen Energiedefizit, größeren Konzentrationen von freien Fettsäuren und Betahydroxybutyrat sowie einer niedrigeren Glucosekonzentration assoziiert. MARR et al. (2002) stellten fest, dass Milchkühe, bei denen der erste, postpartal dominante Follikel nicht zur Ovulation gelangte, während der Transitperiode höhere Konzentrationen von freien Fettsäuren und Betahydroxybutyrat sowie eine höhere, hepatische Triglyceridakkumulation aufwiesen als Tiere, bei denen bereits der erste dominante Follikel ovulierte. Die eigenen Ergebnisse unterstützen die Schlussfolgerungen von OBESE et al. (2004) und SHRESTHA et al. (2004b), nach denen höhere postpartale Konzentrationen freier Fettsäuren das Risiko einer verzögerten ersten Ovulation nach dem Partus erhöhen.

Die Auffassung von STAUFENBIEL et al. (1992c), wonach der Zeitpunkt des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion p.p. in hohem Maße von der Glucoseverfügbarkeit abhängig ist, wird durch die eigenen Ergebnisse insofern unterstützt, als dass die Probanden mit hohem Leberfettgehalt neben einem vergleichsweise längeren Intervall zwischen dem Partus und dem Auftreten des ersten aktiven Corpus luteum insbesondere in der Frühlaktation eine geringere Glucosekonzentration aufwiesen.

Anhand der zwischen den Gruppen differierenden Glucosekonzentrationen wird im Zusammenhang mit der vergleichbaren Milchmengenleistung vermutet, dass sich die Glucosekonzentration der Probanden innerhalb eines physiologischen Toleranzbereiches befand, in dem die Abdeckung des mammären Glucosebedarfs gegenüber dem extramammären Glucoseverbrauch prioritär ist und eine abgesenkte Glucosekonzentration entsprechend nicht die Milchmengenleistung, sehr wohl aber postpartale Fruchtbarkeitsfunktionen beeinflusste. Ähnliche Zusammenhänge zeigen auch die Studien von STAPLES

et al. (1990) und KAWASHIMA et al. (2007b). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchung stellten STAPLES et al. (1990) fest, dass Milchkühe mit einem längeren Intervall zwischen dem Partus und dem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion ein größeres Energiedefizit aufwiesen, sich jedoch in der Milchleistung nicht von den Kontrolltieren mit kürzerem Intervall zwischen dem Partus und dem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion unterschieden. Auch KAWASHIMA et al. (2007b) beobachteten, dass Milchkühe, die innerhalb der ersten 3 Wochen p.p. ovulierten, sich in ihrer Milchleistung nicht von Tieren mit einem späteren Ovulationszeitpunkt unterschieden.

### 5.3 Schlussfolgerungen

1. Die starke Divergenz stoffwechselassoziierter Parameter bei scheinbar gleichen Phänotypen lässt auf eine erhebliche interindividuelle Variabilität der peripartalen Stoffwechselbelastung schließen.
2. Eine stärkere Körperkondition, eine geringe Trockensubstanzaufnahme, ein hohes Energiedefizit und die damit einhergehende, verstärkte Körperfettmobilisation, jedoch nicht die hohe Milchmengenleistung waren prädisponierend für eine vermehrte postpartale Fettakkumulation in der Leber.
3. In dem durch die Probanden repräsentierten Bereich der peripartalen Stoffwechselbelastung war eine höhere metabolische Belastung mit einer erschwerten Glucosehomöostase sowie einem späteren Wiedereinsetzen der Ovarfunktion p.p., jedoch nicht mit einer Veränderung der Milchmengenleistung assoziiert.
4. Die Probanden befanden sich unabhängig von ihrer individuellen Stoffwechselbelastung in einer Stoffwechselsituation, in der Energie und Nährstoffe, selbst bei erschwerter Glucosehomöostase, aufgrund der metabolischen Präferenz der Milchsynthese bevorzugt für die Stoffwechselprozesse in der Milchdrüse verwendet werden.
5. Die Bestimmung des Zeitpunktes der ersten lutealen Aktivität p.p. anhand eines Progesteronprofils ermöglicht es, Beziehungen zwischen einem

objektiv messbaren Parameter zur Einschätzung postpartaler Reproduktionsfunktionen und dem Ausmaß peripartaler metabolischer Belastungen aufzuzeigen.

6. Die auf hohe Milchleistungen selektierten Tiere sind dazu befähigt, innerhalb gewisser physiologischer Grenzen durch adaptive Stoffwechselmodulation erheblich variierende Stoffwechselbelastungen ohne eine klinische Auffälligkeit zu kompensieren, wobei die Milchbildung gegenüber extramammären Prozessen wie Fortpflanzungsfunktionen Priorität genießt.

## 6 Zusammenfassung

Eine nachhaltig erfolgreiche Milchproduktion setzt voraus, dass Milchkühe neben einer hohen produktiven Leistung gleichzeitig auch eine hohe Reproduktionsleistung realisieren. Insbesondere bei Hochleistungstieren werden jedoch häufig innerhalb einer Herde große interindividuelle Unterschiede in der Fähigkeit zur gleichzeitigen Umsetzung von hoher Milch- und stabiler Fruchtbarkeitsleistung festgestellt, wobei die Ursache dafür in der interindividuell differenten, metabolischen Belastung und/oder der variierenden Adaptationsfähigkeit solcher Tiere vermutet wird.

Ausgehend davon, bestand das Ziel der eigenen Untersuchung darin, in einer Hochleistungsherde unter Produktionsbedingungen Tiere mit unterschiedlicher metabolischer Belastung zu identifizieren und diese hinsichtlich ausgewählter zootecnischer Parameter, Metabolite und Hormone des Stoffwechsels, der Genexpression wichtiger Schlüsselenzyme der hepatischen Gluconeogenese sowie des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion in der Frühlaktation zu untersuchen bzw. zu vergleichen. Als Maß zur quantitativen Beurteilung der peripartalen metabolischen Belastung wurde der postpartale Leberfettgehalt, der als arithmetisches Mittel der Werte vom 1., 10. und 21. Tag p.p. ermittelt wurde, definiert.

In die Untersuchung waren 48 multipare (2.-7. Laktation) Deutsche-Holstein Kühe mit hoher Milchleistung (Herdenleistung > 11000kg) im individuellen Versuchszeitraum (60. Tag a.p. - 56. Tag p.p.) einbezogen. Nach Analyse des durchschnittlichen postpartalen Leberfettgehaltes (LFG) jedes Probanden wurden retrospektiv zwei Untersuchungsgruppen (10 Tiere mit dem höchsten LFG bzw. 10 Tiere mit dem geringsten LFG) generiert. Alle Probanden erhielten, dem jeweiligen Haltungsabschnitt entsprechend, eine bedarfsgerechte Diät (60. - 22. Tag a.p. 5,9 MJ NEL, 120 g nXP; 21. - 8. Tag a.p. 6,7 MJ NEL, 152 g nXP; 7. Tag a.p. - 56. Tag p.p. 7,0 MJ NEL, 175 g nXP), welche jeweils ad libitum als TMR (total mixed ration) angeboten wurde. Ihnen wurden am 1., 10. und 21. Tag p.p. Leberproben, am 20. und 7. Tag a.p., zum Partus und am 7., 14., 28. und 56. Tag p.p. Blutproben sowie ab der 3. Woche p.p. wöchentlich Milchproben (Endgemelk) entnommen.

Bei den Probanden wurden am 60. und 20. Tag a.p., zum Partus sowie am 7., 14., 28. und 56. Tag p.p. die Rückenfettdicke, am 7. Tag a.p. sowie zwischen dem 14. und 56. Tag p.p., jeweils im 7-Tage-Intervall, die Trockensubstanzaufnahme, zwischen dem 14. und 56. Tag p.p., jeweils im 7-Tage-Intervall die fettkorrigierte Milchleistung (FCM) und die Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Laktose) erfasst sowie am 14., 28. und 56. Tag p.p. die Energiebilanz ermittelt. Im Blut wurden die Metabolite, freie Fettsäuren (NEFA), Betahydroxybutyrat (BHB) und Glucose sowie die Hormone Insulin, Glucagon, Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) und Leptin bestimmt. Darüber hinaus wurde das Glucagon/Insulin-Verhältnis ermittelt. In den Endgemelksproben wurde die Progesteronkonzentration bestimmt. Im Lebergewebe wurde der Fettgehalt (gesamte Lipide) und die Glykogenkonzentration sowie die Genexpression für die Enzyme Pyruvatcarboxylase (PC; EC 6.4.1.1), cytosolische Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-C; EC 4.1.1.32), mitochondriale Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK-M; EC 4.1.1.32) sowie Glucose-6-phosphatase (G6Pase; EC 3.1.3.9) ermittelt.

Die Probanden in der Gruppe mit hohem LFG wiesen im Untersuchungszeitraum eine größere Rückenfettdicke, eine geringere Trockensubstanzaufnahme sowie ein stärkeres Energiedefizit auf ( $p < 0,01$ ). Die fettkorrigierte Milchmenge unterschied sich zwischen den Gruppen nicht. In der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt wurde ein höherer Milchfettgehalt ( $p < 0,01$ ) sowie ein geringerer Laktosegehalt ( $p < 0,05$ ) ermittelt. Der Milcheiweißgehalt unterschied sich zwischen den Gruppen nicht. In der Gruppe mit hohem LFG wurden höhere NEFA- und BHB-Konzentrationen ( $p < 0,01$ ) sowie eine tendenziell geringere Glucosekonzentration ( $p = 0,1$ ) festgestellt. Die Konzentrationen von Insulin, Glucagon, IGF-1 sowie Leptin unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht voneinander, obgleich in der Gruppe mit hohem LFG ein höherer Wert ( $p < 0,05$ ) für das Glucagon/Insulin-Verhältnis ermittelt wurde. In der Gruppe mit hohem LFG wurde ein geringerer Glykogengehalt ( $p < 0,01$ ), eine höhere Genexpression für PC ( $p < 0,01$ ) sowie eine tendenziell höhere Genexpression für G6Pase ( $p = 0,09$ ) festgestellt. Die Expression für die PEPCK-C nahm während der Früh-laktation bei allen Probanden, unabhängig

vom LFG, zu ( $p < 0,01$ ), während sich die Expressionswerte für die PEPCK-M zwischen den Gruppen nicht unterschieden. Bei 8 Tieren wurde eine „frühe“ (vor dem 28. Tag p.p.), bei 12 Tieren eine vergleichsweise „späte“ (ab dem 35. Tag p.p.) erste luteale Aktivität p.p. festgestellt. Die Tiere mit „früher“ lutealer Aktivität waren mehrheitlich ( $p < 0,05$ ) Probanden mit niedrigem Leberfettgehalt, wohingegen die Tiere mit „späterer“ lutealer Aktivität mehrheitlich ( $p < 0,05$ ) der Gruppe mit hohem Leberfettgehalt angehörten.

Schlussfolgernd ist festzustellen, dass die starke Divergenz stoffwechselassoziierter Parameter bei scheinbar gleichen Phänotypen auf eine erhebliche interindividuelle Variabilität der peripartalen Stoffwechselbelastung der Probanden schließen lässt. Eine stärkere Körperkondition, eine geringe Trockensubstanzaufnahme, ein hohes Energiedefizit und die damit einhergehende, verstärkte Körperfettmobilisation, jedoch nicht die hohe Milchmengenleistung waren prädisponierend für eine vermehrte, postpartale Fettakkumulation in der Leber. In dem durch die Probanden repräsentierten Bereich der peripartalen Stoffwechselbelastung war eine höhere metabolische Belastung mit einer erschwerten Glucosehomöostase sowie einem verzögerten Wiedereinsetzen der Ovarfunktion nach dem Partus, jedoch nicht mit einer Veränderung der Milchmengenleistung assoziiert. Die Probanden befanden sich unabhängig von ihrer individuellen Stoffwechselbelastung in einer Stoffwechselsituation, in der Energie und Nährstoffe, selbst bei erschwelter Glucosehomöostase, aufgrund der metabolischen Präferenz der Milchsynthese bevorzugt für die Stoffwechselprozesse in der Milchdrüse verwendet werden. Die Bestimmung des Zeitpunktes der ersten lutealen Aktivität p.p. anhand von Progesteronprofilen ermöglicht es, Beziehungen zwischen einem objektiv messbaren Parameter zur Einschätzung postpartaler Reproduktionsfunktionen und dem Ausmaß peripartaler metabolischer Belastungen aufzuzeigen. Die auf hohe Milchleistungen selektierten Hochleistungskühe sind dazu befähigt, innerhalb gewisser Grenzen durch adaptive Stoffwechselmodulation erheblich variierende Stoffwechselbelastungen ohne klinische Auffälligkeit zu kompensieren, wobei die Milchbildung gegenüber extramammären Prozessen, wie Fortpflanzungsfunktionen metabolisch, präferiert wird.

## 7 Summary

To enable a long-lasting milk production it is essential that dairy cows achieve high milk and reproductive performance at the same time. Especially in high yielding herds the individual ability to establish high milk yield and successful reproduction shows great variations. Obviously, cows undertake different strategies to cope with metabolic stress during the transition from pregnancy to lactation a time period where physiological changes extremely interfere with performance and health of the cows.

Therefore the aim of our study was to identify cows within a herd of high-performing dairy cows that differ in their metabolic stress. We have used the individual liver fat content (mean of d 1, 10, and 21 after calving) as an indicator for metabolic stress and have investigated zootechnical traits, metabolites and metabolic hormones, gene expression for key enzymes of the hepatic gluconeogenesis and the resumption of the ovarian function during the early postpartal period in cows that markedly differ in their liver fat content.

Experimental cows were kept under identical housing and feeding conditions. In total, 48 multiparous (from second to seventh lactation) high-yielding German Holstein cows (>11,000 kg of milk/305 d x cow) were studied from 60 d before expected calving to 56 d in milk. Based on mean fat content in liver on d 1, 10, and 21, two groups were formed retrospectively, including the 10 cows with the highest (**HFL**) and the 10 cows with the lowest (**LFL**) liver fat content after calving, retrospectively. Throughout the study, all cows received the same diet (dry-off diet from d 60 to 22 before expected calving: containing 5.9 MJ NE<sub>L</sub>/kg DM, 120 g/kg DM utilizable protein; close-up diet from d 21 to 8 before expected calving: containing 6.7 MJ NE<sub>L</sub>/kg DM, 152 g/kg DM utilizable protein; lactation-diet from d 7 before expected calving to d 56 after calving: containing 7.0 MJ NE<sub>L</sub>/kg DM, 175 g/kg DM utilizable protein) as TMR for *ad libitum* intake. Liver biopsy samples were obtained on d 1, 10, and 21 after calving. Blood samples were taken 20 and 7d before expected calving, at calving, and on d 7, 14, 28, and 56 after calving. Milk samples were taken weekly from week 3 of lactation on. Back-fat thickness was determined on d 60 and 20 before expected calving, at calving, and on d 7, 14, 28 and 56 after calving. On d 7 before calving and

from d 14 to 56 after calving dry matter intake was calculated weekly. From d 14 to 56 after calving fat-corrected milk, milk fat, milk protein and lactose were determined weekly. Energy balance was calculated on d 14, 28, and 56 after calving. Blood serum concentrations of nonesterified fatty acids (NEFA),  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) and glucose, as well as plasma concentrations of insulin, glucagon, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and leptin were measured. Furthermore the glucagon to insulin ratio was calculated. The milk samples were utilized to measure the concentration of milk progesterone. The liver biopsy samples were used for analysis of fat and glycogen content as well as mRNA levels of pyruvate carboxylase (PC; EC 6.4.1.1), cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-C; EC 4.1.1.32), mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-M; EC 4.1.1.32), and glucose-6-phosphatase (G6pase; EC 3.1.3.9).

In HFL cows back fat thickness was higher, dry matter intake was lower, and energy balance was more negative than in LFL cows ( $p < 0.05$ ). Fat-corrected milk yield and milk protein content did not differ between groups, but milk fat content was higher ( $p < 0.01$ ) and lactose content was lower ( $p < 0.05$ ) in HFL cows than in LFL cows at the beginning of lactation. Plasma NEFA and BHB concentrations were higher ( $p < 0.01$ ) and glucose concentration tended to be lower ( $p = 0.1$ ) in HFL cows than in LFL cows. Concentrations of insulin, glucagon, IGF-1, and leptin did not differ between groups, but glucagon to insulin ratio was higher ( $p < 0.05$ ) in HFL cows than in LFL cows. Hepatic glycogen content was lower ( $p < 0.01$ ), whereas mRNA level of PC was higher ( $p < 0.01$ ) and mRNA level of G6pase tended to be higher ( $p < 0.09$ ) in HFL cows than in LFL cows. PEPCK-C mRNA level increased similarly after parturition in both groups ( $p < 0.01$ ) but did, as well as mRNA level of PEPCK-M, not differ between groups in a significant manner. Among the 20 cows investigated in the study, 8 cows had an early (before d 28 after calving), and 12 cows had a later (after d 35 after calving) first luteal activity after parturition. Among the 8 cows with early first luteal activity after parturition, the number of LFL cows was higher ( $p < 0.05$ ) than of HFL cows, whereas among the 12 cows with a later first

luteal activity after parturition the number of HFL cows was higher ( $p < 0.05$ ) than of LFL cows.

In conclusion, the great difference of metabolic parameters in apparently similar phenotypes, as seen in this study, suggests a high individual variability in the abundance of metabolic stress in the experimental cows. A higher body condition, a lower dry matter intake, a more negative energy balance, and a therefore greater body fat mobilisation, but not the high milk yield, were identified as factors that lead to an elevated fat accumulation in the liver after parturition. A higher metabolic stress was associated with an aggravated glucose homeostasis as well as a delayed resumption of ovarian function in the early postpartum period, but not with changes in milk yield. Not depending on the individual metabolic stress, the experimental cows preferably provided energy and nutrients for metabolic processes in the mammary gland, even during aggravated glucose homeostasis. Due to measurement of first luteal activity by using progesterone profiles, it is possible to verify the relationships between an objective measurable parameter of postpartal reproductive functions and the abundance of peripartal metabolic stress. High yielding dairy cows are able to adapt to physiological changes around parturition and cows vary in their strategies for adaptation, leading to different levels of metabolic stress, but no clinical symptoms of metabolic disturbance, that allows milk synthesis with highest metabolic priority, but may impair other energy demanding processes like reproductive functions.

## 8 Literaturverzeichnis

- AGCA, C., R.B. GREENFIELD, J.R. HARTWELL, S.S. DONKIN (2002):  
Cloning and characterization of bovine cytosolic and mitochondrial PEPCK during transition to lactation. *Physiol. Genomics*. 11, 53-63
- AGCA, C., S.S. DONKIN (2007):  
Expression of pyruvate carboxylase mRNA variants in liver of dairy cattle at calving. *PLoS ONE*. 2(12), e1270.doi:10.1371/journal.pone.0001270
- AHMED, M. (2004):  
Untersuchungen zur Diagnostik und Bedeutung der Fettleber bei klinisch kranken Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung möglicher Beziehungen zur Hypophosphatämie.  
Vet.-Med. Diss., Fachber. Veterinärmed. Freie Universität Berlin, Berlin
- AHIMA, R.S. (2000):  
Leptin and the neuroendocrinology of fasting. *Front. Horm. Res.* 26, 42-56
- ALLEN, M.S., B.J. BRADFORD, K.J. HARVATINE (2005):  
The cow as a model to study food intake regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 25, 523-547
- AMARAL-PHILLIPS, D.M., A.D. MCGILLARD, G.L. LINDBERG, J.J. VEENHUIZEN, J.W.E. YOUNG (1993):  
Effect of decreased availability of glucose for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 752-761
- ANDERSEN, J.B., T. LARSEN, M.O. NIELSEN, K.L. INGVARTSEN (2002):  
Effect of energy density in the diet and milking frequency on hepatic long chain fatty acid oxidation in early lactating dairy cows. *J. Vet. Med. A* 49, 177-183
- ARMSTRONG, D.G., J.G. GONG, R. WEBB (2003):  
Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reprod.* 61(Suppl.), 403-414
- ASCHENBACH, J. R., S. K. BHATIA, H. PFANNKUCHE, G. GÄBEL (2000a):  
Glucose is absorbed in a sodium-dependent manner from forestomach contents of sheep. *J. Nutr.* 130, 2797-2801
- ASCHENBACH, J. R., H. WENING, M. KURZE, E. SCHABERG, H. NIEPER, G. BURCKHARDT, G. GÄBEL (2000b):  
Functional and molecular biological evidence of STLT-1 in the ruminal epithelium of sheep. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 279, G20-G27
- ATTWOOD, D.V., D.B. KEECH (1984):  
Pyruvate carboxylase. *Curr. Top. Cell. Regul.* 23, 1
- AZZOUT-MARNICHE, D., C. GAUDICHON, C. BLOUT, C. BOS, V. MATHE, J.-F. HUNEAU, D. TOME (2006):  
Liver glycogenesis: a pathway to cope with postprandial amino acid excess in high-protein fed rats?  
*Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292, R1400-R1407
- BAIRD, G.D., M.A. LOMAX, H.W. SYMONDS, S.R. SHAW (1980):  
Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochim. J.* 186, 47-57
- 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
- BADO, A., S. LEVASSEUR, S. ARROUB, S. KERMORGANT, J.P. LAIGNEAU, M.N. BORTOLUZZI, L. MOIZO, T. LEHY, M. GUERRE-MILLO, Y. LE MARCHAND-BRUSTEL, M.J.M. LEWIN (1998):  
The stomach is a source of leptin. *Nature*. 394, 790-793

- BARTHEL, A., D. SCHMOLL (2003):  
Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis.  
*Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285, E685-E692
- BAUMAN, D.E., 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. (2000):  
Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: CRONJE, P.E. (Hrsg.): *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. CAB International, pp. 311-327
- BEAM, S.W., W.R. BUTLER (1997):  
Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat.  
*Biol. Reprod.* 56, 133-142
- BEAM, S.W., W.R. BUTLER (1998):  
Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81, 121-131
- BEAM, S.W., W.R. BUTLER (1999):  
Effect of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 54(Suppl.), 411-424
- BEERDA, B., W. OUWELTJES, L.B.J. SEBEK, J.J. WINDIG, R.F. VEERKAMP (2007):  
Effects of genotype by environment interactions on milk yield, energy balance, and protein balance. *J. Dairy Sci.* 90, 219-228
- BEEVER, D. E. (2006):  
The impact of controlled nutrition during the dry period on dairy cow health, fertility and performance. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 212-226
- BELL, A.W. (1995a):  
Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73, 2804-2819
- BELL, A.W. (1995b):  
Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 78, 1954-1961
- BERGHORN, K.A., R.D. ALLRICH, C.H. NOLLER (1988):  
Energy balance and reproductive traits of postpartum dairy cattle.  
*J. Dairy Sci.* 71(Suppl.1), 171
- BERGMAN, E.N., R.P. BROCKMAN, C.F. KAUFMAN (1974):  
Glucose metabolism in ruminants: Comparison of whole-body turnover with production by gut, liver and kidneys. *Fed. Proc.* 33, 1849-1854
- BERGMAN, E.N. (1968):  
Glycerol turnover in the non pregnant and ketotic pregnant sheep.  
*Am. J. Physiol.* 215, 865-873
- BERGMAN, E.N. (1973):  
Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis.  
*Cornell Veterinary.* 63, 341
- BERGMANN, J., W. HEUWIESER, B. FISCHER, A. BRÜCKMANN (1999):  
Reaktion der Hypophyse auf eine einmalige GnRH-Applikation in Abhängigkeit von der Energiebilanz bei Kühen im Puerperium. *Tierärztl. Praxis.* 27, 154-160

- BERTICS, S.J., R.R. GRUMMER, C. CADORNIGA-VALIÑO, E.E. STODDARD (1992):  
Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75, 1914-1922
- BERTICS, S.J., R.R. GRUMMER (1999):  
Effects of fat and methionine hydroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. *J. Dairy Sci.* 82, 2731-2736
- BICKERSTAFFE, R., E.F. ANNISON, J.L. LINZELL (1974):  
The metabolism of glucose, acetate, lipids and amino acids in lactating dairy cows. *J. Agric. Sci.* 82, 71-85
- BINES, J.A., I.C. HART (1982):  
Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. *J. Dairy Sci.* 65, 1375-1389
- BLACHE, D., R.L. TELLAM, L.M. CHAGAS, M.A. BLACKBERRY, P.E. VERCOE., F.B. MARTIN (2000):  
Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma, and cerebrospinal fluid in sheep. *J. Endocrinol.* 165, 625-637
- BLOCK, S.S., W.R. BUTLER, R.A. EHRHARDT, A.W. BELL, M.E. VAN AMBURGH, Y.R. BOISCLAIR (2001):  
Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171, 339-348
- BLUM, J.W., R.M. BRUCKMAIER, P.Y. VACHER (1999):  
Insulin-dependent whole-body glucose utilization and insulin-responses to glucose in week 9 and 19 of lactation in dairy cows fed rumen-protected crystalline fat or free fatty acids. *Dom. Anim. Endocrinol.* 16, 123-134
- BLUM, J.W., P. KUNZ (1980):  
Stoffwechselprofile: Veränderungen von Hormonen und Metaboliten im Zusammenhang mit der Milchleistung. *Schweiz. Landw. Mh.* 58, 453-465
- BLUM, J.W. (1992):  
Physiologische Grundlagen hoher Milchleistung beim Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 134, 213-229
- BLUM, J.W. (2004):  
Metabolic performances of the mammary gland. *Übers. Tierernährg.* 32, 183-201
- BOBE, G., B.N. AMETAJ, J.W. YOUNG, D.C. BEITZ (2003):  
Effects of exogenous glucagon on lipids in lipoproteins and liver of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 2895-2903
- BOBE, G., J.W. YOUNG, D.C. BEITZ (2004):  
Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3105-3124
- BOISCLAIR, Y., D.G. GRIEVE, O.B. ALLEN, 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
- BOSSAERT, P., J.L.M.R. LEROY, S. DE VliegHER, G. OPSOMER (2008):  
Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 3363-3371
- BOSTEDT, H., L.E. KOZICKI, K.H. FINGER, H. KARG (1985):  
Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Haltungsbedingungen auf postpartale Regenerationsvorgänge am Genitaltrakt von Kühen unter Berücksichtigung der Progesteronprofile. *Zuchthygiene.* 20, 17-33

- BOSTEDT, H. (1997):  
Einflüsse der Fütterung auf die Fruchtbarkeit bei der Milchkuh. *Proc. III. Polnisch-Deutsches-Symposium „Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung“*  
Warschau, Polen, pp. 20
- BOWDEN, D.M. (1971):  
Non esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants: a review. *Can. J. Anim. Sci.* 51, 1-13
- BRADFORD, B.J., M.S. ALLEN (2005):  
Phlorizin administration increases hepatic gluconeogenic enzyme mRNA abundance but not feed intake in late-lactation dairy cows. *J. Nutr.* 135, 2206-2211
- BROCKMAN, R.P., E.N. BERGMAN (1975):  
Effect of glucagon and insulin on net hepatic metabolism of glucose precursors in sheep. *Am. J. Physiol.* 229, 1344-1350
- BROCKMAN, R.P. (1978):  
Roles of glucagon and insulin in the regulation of metabolism in the ruminant. *Can. Vet. J.* 19, 55
- BROCKMAN, R.P. (1985):  
Role of insulin in regulating hepatic gluconeogenesis in sheep. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 63, 1460-1464
- BROCKMAN, R. P. (1986):  
Pancreatic and adrenal hormonal regulation of metabolism.  
In: L. P. MILLIGAN, W. L. GROVUM, A. DOBSON. (Hrsg.): *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*.  
A Reston Book, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, pp. 405-419
- BROCKMAN, R.P. (1990):  
Effect of insulin on the utilization of propionate in sheep. *Nutr.* 64, 95-101
- BROCKMAN, R.P. (1993):  
Glucose and short-chain fatty acid metabolism.  
In: DIJKSTRA, J., J.M. FORBES, J. FRANCE. (Hrsg.): *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 249-265
- BROCKMAN, R.P. (2005):  
Glucose and short-chain fatty acid metabolism.  
In: DIJKSTRA, J., J.M. FORBES, J. FRANCE. (Hrsg.): *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 291-310
- BURCELIN, R., E.B. KATZ (1996):  
Molecular and cellular aspects of the glucagon receptor: Role in diabetes and metabolism. *Diab. Metab.* 22, 373-396
- BUSATO, A., D. FAISSE, U. KUPFER, J.W. BLUM (2002):  
Body condition scores in dairy cows: Association with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J. Vet. Med.* 49A, 455-460
- BUTLER, W.R., R.W. EVERETT, C.E. COPPOCK (1981):  
The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53, 742-748
- BUTLER, S.T., A.L. MARR, S.H. PELTON, R.P. REDCLIFF, M.C. LUCY, W.R. BUTLER (2003):  
Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects of expression of IGF-1 and HG receptor 1A. *Endocrinol.* 176, 205-217
- BUTLER, S.T., S.H. PELTON, W.R. BUTLER (2004):  
Insulin increases 17 beta-estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reprod.* 127, 537-545

- BUTLER, S.T., S.H. PELTON, W.R. BUTLER (2006):  
Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J. Dairy Sci.* 89, 2938 - 2951
- BUTLER, W.R., R.D. SMITH (1989):  
Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72, 767 - 783
- BUTLER, W.R., C.C. ELROD (1992):  
Reproduction in high-yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake. *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, Bern, Schweiz, 240-252
- BUTLER, W.R. (2000):  
Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.  
*Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 449-457
- BUTLER, W.R. (2003):  
Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Reprod. Sci.* 83, 211-218
- BUTLER, W.R. (2005):  
Inhibition of ovulation in the postpartum cow and the lactating sow.  
*Livest. Prod. Sci.* 98, 5-12
- CADORNIGA-VALIÑO, C., R.R. GRUMMER, L.E. ARMENTANO (1997):  
Effects of fatty acids and hormones of fatty acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 80, 646-653
- CANFIELD, R.W., C.J. SNIFFEN, W.R. BUTLER (1990):  
Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73, 2342-2349
- CANFIELD, R.W., W.R. BUTLER (1990):  
Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion in early postpartum dairy cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 7, 323-330
- CHERRINGTON, A.D., R.W. STEVENSON, K.E. STEINER, M.A. DAVIS, S.R. MYERS, B.A. ADKINS, N.N. ABUMRAD, P.E. WILLIAMS (1987):  
Insulin, glucagon and glucose as regulators of hepatic glucose uptake and production in vivo. *Diab. Metab. Rev.* 3, 307-332
- CHERRINGTON, A.D., J.E. LILJENQUIST (1981):  
Role of glucagon in regulating glucose production in vivo.  
In: UNGER, R.H., L. ORCI. (Hrsg.): *Glucagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A cells. Current Endocrinology.*  
Elsevier, New York, pp. 221-253
- CEDEÑO, E.M., S.L. KOSER, S.S. DONKIN (2008):  
Quantification of glucose-6-phosphatase mRNA abundance in liver of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91(Suppl.1), 424(Abstr.)
- CHAIYABUTR, N., S. KOMOLVANICH, S. SAWANGKOON, S. PREUKSAGORN, S. CHANPONGSANG (1998):  
Glucose metabolism in vivo in crossbred Holstein cattle feeding on different types of roughage during late pregnancy and early lactation.  
*Comp. Biochem. Physiol. A* 119, 905-913
- CHELIKANI, P.K., J.D. AMBROSE, D.H. KEISLER, J.J. KENNELLY (2004):  
Effect of short-term fasting on plasma concentrations of leptin and other hormones and metabolites in cattle. *Dom. Anim. Endocrinol.* 26, 33-48
- CHIESA, F., F. GAIANI, A. FORMIGONI, P.A. ACCORSI (1991):  
Hormonal and metabolic variations in high-yielding dairy cows during dry period and lactation. *Arch. Vet. Ital.* 42, 157-179

- CHILLIARD, Y., F. BOCQUIER, M. DOREAU (1998a):  
Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* **38**, 131-152
- CHILLIARD, Y., A. FERLAY, C. DELAVAL, F. BOCQUIER (1998b):  
Plasma Leptin in overfed or underfed adult Holstein and Charolais cows and its relationship with adipose tissue cellularity. *Int. J. of Obesity*. **22(Suppl.3)**, 171
- CHILLIARD, Y., M. BONNET, C. DELAVAL, Y. FAULCONNIER, C. LEROU, J. DJIANE, F. BOCQUIER (2001):  
Review: Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Dom. Anim. Endocrinol.* **21**, 271-295
- CHILLIARD, Y., C. DELAVAL, M. BONNET (2005):  
Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Dom. Anim. Endocrinol.* **29**, 3-22
- CHRISTOPHE, J. (1995):  
Glucagon and its receptor in various tissues. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **805**, 31-43
- CHUDY, A. (1999):  
Energy requirement for gluconeogenesis - measurements in bulls with fistulas in the duodenum. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **29**, 178-180
- COOK, N.B., W.R. WARD, H. DOBSON (2001):  
Concentration of ketones in milk in early lactation, and reproductive performance of dairy cows. *Vet. Res.* **148**, 769-772
- CONNER, T., N.P. JOSHI, T.H. HERDT, L. NEUDER (2004):  
Association of prepartum plasma non-esterified fatty acid concentrations with postpartum metabolic diseases in Holstein cows.  
*Proc. 23<sup>rd</sup> World Buiatrics Congress*, Québec, Canada. 61(Abstr.)
- COPPOCK, C.E., C.H. NOLLER, S.A. WOLFE (1974):  
Effect of energy-concentrate ratio in complete feeds fed ad libitum on energy intake in relation to requirements by dairy cows. *J. Dairy Sci.* **57**, 1371-1380
- CORREA, M.T., C.R. CURTIS, H.N. ERB, J.M. SCARLETT, R.D. SMITH (1990):  
An ecological analysis of risk factors for postpartum disorders of Holstein-Friesian cows from thirty-two New York farms. *J. Dairy Sci.* **73**, 1515-1524
- CORREA, M.T., H. ERB, J. SCARLETT (1993):  
Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows.  
*J. Dairy Sci.* **76**, 1305-1312
- CRYER, P.E., S.N. DAVIS, H. SHAMOON (2003):  
Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care*. **6**, 1902-1912
- CUNNINGHAM, M.J., D.K. CLIFTON, R.A. STEINER (1999):  
Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms.  
*Biol. Reprod.* **60**, 216-222
- DANFAER, A., V. TETENS, N. AGERGAARD (1995):  
Review and experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comp. Biochem. Physiol. B* **111**, 201-210
- DANFAER, A. (1999):  
Nutrient flow across the liver in dairy cows. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **8**, 13-25
- DARGEL, D. (1987):  
Zur enzymatischen Bestimmung von Acetoacetat und D-(-)-3-Hydroxybutyrat im Blut und in der Milch von Kühen. *Mh. Vet.-Med.* **42**, 244-247
- DARWASH, A.O., G.E. LAMMING, J.A. WOLLIAMS (1997):  
The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Anim. Sci.* **65**, 9-16

- DAVIS, S.R., R.J. COLLIER (1985):  
Mammary blood flow and regulation of substrate supply for milk synthesis.  
*J. Dairy Sci.* 68, 1041-1058
- DE BOER, G., A. TRENKLE, 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
- DE FRAIN, J.M., A.R. HIPPEN, K.F. KALSCHEUR, P.W. JORDAN (2004):  
Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 87, 4195-4206
- DE LAVAUD, C., F. BOCQUIER, Y. CHILLIARD, D.H. KEISLER, A. GERTLER, G. KANN (2000):  
Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration accessed by a specific RIA in sheep.  
*J. Endocrinol.* 165, 519-526
- DE LAVAUD, C., A. FERLAY, Y. FAULCONNIER, F. BOSQUIER, G. KANN, Y. CHILLIARD (2002):  
Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80, 1317-1328
- DE KRUIF, A.D., R. MANSFELD, M. HOEDEMAKER (1998):  
*Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Rind*. 1. Auflage,  
Enke-Verlag, Stuttgart. 429-474
- DE VRIES, M.J., R.F. VEERKAMP (2000):  
Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility.  
*J. Dairy Sci.* 83, 62-69
- DISKIN, M.G., D.R. MACKEY, J.R. ROCHE, J.M. SREENAN (2003):  
Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78, 345-370
- DOBDELAAR, P., T. MOTTRAM, C. NYABADZA, P. HOBBS, R.J. ELLIOTT-MARTIN, Y.H. SCHUKKEN (1996):  
Detection of ketosis in dairy cows by analysis of exhaled breath.  
*Veterinary Quality*. 18, 151-152
- DOEPEL, L., H. LAPIERRE, 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
- DOEPEL, L., G.E. LOBLEY, J.F. BERNIER, P. DUBREUIL, H. LAPIERRE (2009):  
Differences in splanchnic metabolism between late gestation and early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 3233-3243
- DOHOO, I.R., S.W. MARTIN (1984):  
Subclinical Ketosis: Prevalence and associations with production and disease.  
*Can. J. Comp. Med.* 48, 1-5
- DOMECQ, J.J., A.L. SKIDMORE, J.W. LLOYD, J.B. KANEENE (1997a):  
Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows.  
*J. Dairy Sci.* 80, 113-120
- DOMECQ, J.J., A.L. SKIDMORE, J.W. LLOYD, J.B. KANEENE (1997b):  
Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80, 101-112
- DONKIN, S.S., L.E. ARMENTANO (1995):  
Insulin and glucagon regulation of gluconeogenesis in preruminating and ruminating bovine. *J. Anim. Sci.* 73, 546-551

- DONKIN, S.S. (1999):  
Role of the endocrine pancreas in animal metabolism, growth and performance.  
In: PIERZYNOWSKI, S.G., R. ZABIELSKI. (Hrsg.): *Biology of the pancreas in growing animals*. Elsevier B.V., Amsterdam, pp. 315-328
- DÖCKE, F. (1994):  
Keimdrüsen. In: DÖCKE, F. (Hrsg.): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*.  
3. Auflage, Gustav Fischer-Verlag, Jena und Stuttgart, pp. 399-498
- DOUGLAS, G.N. (2002):  
Peripartal lipid metabolism and tissue fatty acid composition in Holstein cows fed supplemental fat during the dry period.  
PhD Diss., University of Illinois, Urbana, IL, USA
- DRACKLEY, J.K., T.R. OVERTON, 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(E-Suppl.), E100-E112
- DRACKLEY, J.K., M.D. HEATHER, G.N. DOUGLAS, A.J. GURETZKY, N.B. LITHERLAND, J.P. UNDERWOOD, J.J. LOOR (2005):  
Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 4, 323-344
- DRACKLEY, J.K., S.S. DONKIN, C.K. REYNOLDS (2006):  
Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 89, 1324-1336
- DRACKLEY, J.K., J.B. ANDERSEN (2006):  
Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants.  
In: SEJRSEN, K., T. HVELPLUND, M.O. NIELSEN. (Hrsg.): *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, pp. 199-224
- 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.  
*Proc. 22<sup>nd</sup> World Buiatrics Congress*, Hannover, Germany. Keynote lectures. 224-235
- DRACKLEY, J.K. (2003):  
Interrelationships of prepartum dry matter intake with postpartum intake and hepatic lipid accumulation. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl.), 104-105(Abstr.)
- DRACKLEY, J.K. (2004):  
Fütterung und Management der Milchkuh im peripartalen Zeitraum.  
*Übers. Tierernährung.* 32, 1-21
- DUFFIELD, T.F., R. BAGG, L. DESCOTEAUX, E. BOUCHARD, M. BRODEUR, D. DUTREMBLAY, G. KEEFE, S. LEBLANC, P. DICK (2002):  
Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 397-405
- DUFFIELD, T.F. (2000):  
Subclinical ketosis in lactating dairy cattle.  
*Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 16, 231-253
- DUFFIELD, T.F. (2004):  
Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows.  
*Proc. 23<sup>rd</sup> World Buiatrics Congress*, Québec, Canada. Keynote lectures.  
(zitiert vom 28.08.2008)  
<http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2004/WBC2004-Duffield-simple.pdf>

- DUSKE, K., H.M. HAMMON, A.-K. LANGHOF, O. BELLMANN, B. LOSAND, K. NÜRNBERG, G. NÜRNBERG, H. SAUERWEIN, H.M. SEYFERT, C.C. METGES (2009):  
Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. *J. Dairy Sci.* 92, 1670-1684
- DYK, P.B., R.S. EMERY, J.L. LIESMANN, H.F. BUCHOLTZ, M.J. VANDEHAAR (1995):  
Prepartum nonesterified fatty acids in plasma are higher in cows developing peripartum health problems. *J. Dairy Sci.* 78(1), 264(Abstr.)
- EDMONSON, A.J., I.J. LEAN, L.D. WEAVER, T. FARVER, G. WEBSTER (1989):  
A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 68-78
- EHRHARDT, R.A., R.M. SLEPETIS, J. SIEGAL-WILLOTT, M.E. VAN AMBURGH, A.W. BELL, 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
- EICHER, R., S. KOHLER, J. BLUM (2005):  
Milchinhaltstoffe: Ein diagnostisches Hilfsmittel für die metabolische Betriebsüberwachung. (unveröffentlicht)
- EMERY, R.S., J.S. LIESMANN, T.H. HERDT (1992):  
Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122, 832-837
- EMERY, R.S. (1988):  
Feed intake and change in body composition of lactating mammals. *tSI Atlas of. Science: Anim. and Plant Sci.* 51-54
- ENJALBERT, F., M.C. NICOT, C. BAYOURTHE, 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
- EVANS, E. (2003):  
Auswirkungen von Stoffwechselstörungen auf die Fruchtbarkeit.  
In: PIEPER, B., S. POPPE, A. SCHRÖDER (Hrsg.): *Tagungsbericht: 7. Symposium-Fütterung und Management von Kühen mit hohen Leistungen*, pp. 5-31
- FERGUSON, J.D., K.A. OTTO, C.J. SNIFFEN, D.G. FOX (1991):  
Quantitating body condition change. *J. Dairy Sci.* 74(Suppl.1), 276(Abstr.)
- FERGUSON, J.D. (1991):  
Nutrition and reproduction in dairy cows. *Food Anim. Pract.* 7, 483-507
- FERGUSON, J.D. (1996):  
Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59, 173-184
- FERNANDES, L.C., W.W. THATCHER, C.J. WILCOX, E.P. CALL (1978):  
LH release in response to GnRH during the postpartum period of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 46, 443-448
- FERREIRA, G., W.P. WEISS (2007):  
Effect of biotin on activity and gene expression of biotin-dependent carboxylase in the liver of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 1460-1466
- FILAR, J., J. MARCZUK, E. MADEJ, A. STEC, J. SZALECKI (1994):  
Klinische und biochemische Verlaufsuntersuchungen in Herden mit dem Fettmobilisierungssyndrom bei Milchkühen.  
*Proc. 18<sup>th</sup> World Buiatrics Congress*, Bologna, Italy. 1273-1276
- FILSELL, O.H., I.G. JARRETT, P.H. TAYLOR, D.B. KEECH (1969):  
Effects of fasting, diabetes and glucocorticoids on gluconeogenic enzymes in sheep. *Biochem. Biophys. Acta.* 184, 54-61

- FLACH, D., V. DZAPO, R. WASSMUTH (1984):  
 Stoffwechselfparameter als Indikatoren für die Leistungsveranlagung von Rindern.-  
 Beziehungen von Schilddrüsenhormonen, Insulin, Kreatinin-Kinase, Glutamat-  
 Dehydrogenase und Glutathion-Reduktase zu Kriterien der Milchleistung.  
*Z. Tierzüchtg. Züchtungsbiol.* 101, 188-197
- FORMIGONI, A., E. TREVISI (2003):  
 Transition Cow: Interaction with Fertility.  
*Vet. Res. Com.* 27(Suppl.1), 143 - 152
- FORSHELL, K.P., L. ANDERSSON, B. PEHRSON (1991):  
 The relationship between the fertility of dairy cows and clinical and biochemical  
 measurments, with special reference to plasma glucose and milk acetone.  
*J. Vet. Med.* 38, 608-616
- FREITAG, M. (1995):  
 Stoffwechselstörungen frühzeitig erkennen. Vorbeugen ist besser als Heilen.  
*Milchpraxis* 33, 166-167
- FRENCH, P.D. (2006):  
 Dry matter intake and blood parameters of nonlacting Holstein and Jersey cows in  
 late gestation. *J. Dairy Sci.* 89, 1057-1061
- FRIEDMAN, J.M., J.L. HALAAS (1998):  
 Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 395, 763-770
- FRONK, T.J., L.H. SCHULTZ, A.R. HARDIE (1980):  
 Effect of dry periode overconditioning on subsequent metabolic disorders and  
 performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63, 1080-1090
- FUHRMANN, H., C. EULITZ-MENDER, H. GELDERMANN,  
 H.-P. SALLMANN (1989):  
 Zur Evaluierung von Hormon- und Metabolitenprofilen nach Infusion von Glucose,  
 Propionat und Butyrat beim Rind.  
*Berliner und Münchener Tierärztl. Wschr.* 102, 188-193
- FÜRLI, M., W. DECKERT, M. SCHÄFER, A. WEHLITZ (1992):  
 Lipolyse und Ketogenese bei Milchkühen - Beobachtungen im Laktationsverlauf.  
*Mh. Vet.-Med.* 47, 119-127
- FÜRLI, M., A. UHLING, H. KIRBACH, M. SCHÄFER (1998):  
 Ergebnisse langjähriger Kontrollen des Säure-Basen-Haushaltes und anderer  
 stoffwechselrelevanter Kriterien in Milchviehherden im Raum Leipzig.  
 In: FÜRLI, M. (Hrsg.): *Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilität beim Rind.*  
 Akademie für Tierärztliche Fortbildung, Leipzig, pp. 212-218
- FÜRLI, M. (1989):  
 Vorkommen, Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und medikamentelle Beeinflussung  
 von Leberschäden beim Rind. Diss. B, Universität Leipzig, Leipzig
- FÜRLI, M. (1997):  
 Fit und gesund in die neue Laktation. *Milchrind.* 6, 48-51
- FÜRLI, M. (2000):  
 Das Fettmobilisierungssyndrom. *Großtierpraxis.* 1, 24-34
- FÜRLI, M. (2004):  
 Stoffwechselkontrolle und Stoffwechselüberwachung bei Rindern. Teil 1:  
 Chancen, Regeln und Risiken. *Nutztierpraxis aktuell.* 9, 8-17
- FÜRLI, M. (2005):  
 Spezielle Untersuchung beim Wiederkäuer.  
 In: KRAFT, W., U.M. DÜRR (Hrsg.): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.*  
 6. Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York, pp. 444-474

- GALLO, L., P. CARNIER, M. CASSANDRO, R. MANTOVANI, L. BAILONI, B. CONTIERO, 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
- GARBER, A., F.J. BALLERD, R.W. HANSON (1972):  
The significance of mitochondrial phosphoenolpyruvate formation in the regulation of gluconeogenesis in guinea pig liver. In: MEHLMAN, M.A., R.W. HANSON: *Metabolism and the regulation of metabolic processes in mitochondria*. Academic Press, New York, NY, pp. 109-135
- GASTEINER, J. (2000):  
Ketose, die bedeutsamste Stoffwechselerkrankung der Milchkuh. Tagungsband. *27. Viehwirtschaftliche Fachtagung, Gumpenstein*. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Gumpenstein, pp. 11-18
- GARNSWORTHY, P.C., 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
- GARNSWORTHY, P.C. (2007):  
Body condition score in dairy cows: Targets for production and fertility. In: GARNSWORTHY, P.C., J. WISEMAN. (Hrsg.): *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 61-86
- GEARHART, M.A., C.R. CURTIS, H.N. ERB, R.D. SMITH, C.J. SNIFFEN, L.E. CHASE, M.D. COOPER (1990):  
Relationships of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 73, 3132-3140
- GEBHARDT, W. (1993):  
Leistungsmerkmale und minore Bestandteile in der zweiten Früh lactation bei hochleistenden HF-Kühen in einem offenen Nukleus. Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- GEELLEN, M.J.H., 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
- GERLOFF, B.J., T.H. HERDT, R.S. EMERY (1986):  
Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 845-850
- GERLOFF, B.J., T.H. HERDT (1984):  
Hepatic lipodosis from dietary restriction in nonlactating cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185, 223-224
- GERLOFF, B.J. (2000):  
Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 16, 283-292
- GERMAN SOCIETY OF NUTRITION PHYSIOLOGY (2001):  
Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. No. 8 Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. DLG-Verlag, Frankfurt a.M.
- GIESECKE, D., M. STANGASSINGER, W. VEITINGER (1987a):  
Plasma-Insulin und Insulinantwort bei Kühen mit hoher Milchleistung. *Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.* 18, 20-29
- GIESECKE, D., H. MAYER, G. LOIBL (1987b):  
Lipidmobilisation und Fettsäuremuster bei Kühen mit hoher Leistung. *Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.* 18, 43-56

- GIESECKE, D., M. STANGASSINGER, W. THEVIS (1987c):  
 Insulinresistenz, Insulinclarence und Lipolyse bei normalen und bei fetten Kühen.  
*Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.* 18, 57-69
- GIESECKE, D., S. WIESMAYR, A. ERTL (1987d):  
 Plasmaglyceride, Insulinspiegel und Affinität der Insulinrezeptoren auf Erythrozyten  
 bei Kühen mit hoher Milchleistung. *Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.* 18, 70-81
- GIGER, R., D. FAISSLER, A. BUSATO, J. BLUM, U. KÜPFER (1997):  
 Blutparameter während der Früh-laktation in Beziehung zur Ovarfunktion bei  
 Milchkühen. *Reprod. Dom. Anim.* 32, 313-319
- GINTHER, O.J., M.C. WILTBANK, P.M. FRICKE, J.R. GIBBONS,  
 K. KOT (1996a):  
 Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55, 1187-1194
- GINTHER, O.J., K. KOT, L.J. KULICK, S. MARTIN,  
 M.C. WILTBANK (1996b):  
 Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of  
 pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 108, 271-279
- GIRARD, J., P. FERRÉ, J.P. PÉGORIER, P.H. DUEÉ (1992):  
 Adaptions of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-  
 weaning transition. *Physiol. Rev.* 72, 507-562
- GLISTER, C., D.S. TANNETTA, N.P. GROOME, P.G. KNIGHT (2001):  
 Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating  
 secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa  
 cells. *Biol. Reprod.* 65, 1020-1028
- GOFF, J.P., R.L. HORST (1997):  
 Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.  
*J. Dairy Sci.* 80, 1260-1268
- GONG, J.G., W.J. LEE, P.C. GARNSWORTHY, R. WEBB (2002):  
 Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the  
 early postpartum period on reproductive function in dairy cows.  
*Reproduction.* 123, 419-427
- GRABOWSKI, N. T. (2000):  
 Körpergewichtsentwicklung, Milchinhaltsstoffe und Milchmengenleistung als Kriterien  
 zur laktationsbegleitenden Beurteilung des Gesundheitszustandes  
 hochleistender DSB-Kühe in Laufstallhaltung.  
 Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- GRAF, F. (1984):  
 Stoffwechsel und Endokrinologie von Hochleistungskühen.  
*Züchtungskunde.* 56, 344-350
- GREGORY, N.G., J.K. ROBINS, D.G. THOMAS, R.W. PURCHAS (1998):  
 Relationship between body condition score and body composition in dairy cows.  
*N. Z. J. agric. Res.* 41, 527-532
- GREENFIELD, R.B., M.J. CECAVA, S.S. DONKIN (2000):  
 Changes in mRNA expression for gluconeogenic enzymes in liver of dairy cattle  
 during the transition to lactation. *J. Dairy. Sci.* 83, 1228-1236
- GRIZARD J., M. BALANGE, M. MANIM (1986):  
 Hormonal regulation of hepatic metabolism in ruminants.  
*Reprod. Nutr. Devel.* 26, 245-257
- GRÖHN, Y., L. A. LINDBERG, M.L. BRUSS, T.B. FARVER (1982):  
 Methodological aspects of the microscopy of bovine liver biopsies.  
*J. Comp. Path.* 92, 567 - 578

- GRUM, D.E., J.K. DRACKLEY, R.S. YOUNKER, D.W. LA COUNT, J.J. VEENHUIZEN (1996):  
Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79, 1850-1864
- GRUM, D.E., J.K. DRACKLEY, J.H. CLARK (2002):  
Fatty acid metabolism in liver of dairy cows fed supplemental fat and nicotinic acid during an entire lactation. *J. Dairy Sci.* 85, 3026-3034
- GRUMMER, R.R., S.J. BERTICS, R.A. HACKBART (2000):  
Effects of prepartum milking on dry matter intake, liver triglyceride, and plasma constituents. *J. Dairy Sci.* 83, 60-61
- GRUMMER, R.R., D.G. MASHEK, A. HAYIRLI (2004):  
Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 20, 447-470
- 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
- GRUNERT, E. (1999):  
Physiologie der Fortpflanzung Geschlechtsreife, Zuchtreife und Erstkalbealter. In: DE KRUIF, A.D. (Hrsg.): *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*. 3. Auflage, Paul Parey-Verlag, Berlin, pp. 111-146
- GUTIERREZ, C.G., B.K. CAMPBELL, R. WEBB (1997):  
Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: Induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biol. Reprod.* 56, 608-616
- HAGA, S., S. FUJIMOTO, T. YONEZAWA, K. YOSHIOKA, H. SHINGU, Y. KOBAYASHI, T. TAKAHASHI, Y. OTANI, K. KATOH, Y. OBARA (2008):  
Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production Systems. *J. Dairy Sci.* 91, 3156-3164
- HAMMON, H.M., S.N. SAUTER, M. REIST, Y. ZBINDEN, C. PHILIPONA, C. MOREL, J.W. BLUM (2003):  
Dexamethasone and colostrum feeding affect hepatic gluconeogenic enzymes differently in neonatal calves. *J. Anim. Sci.* 81, 3095-3106
- HANSON, R.W., Y.M. PATEL (1994):  
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP): The gene and the enzyme. *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 69, 203-281
- HANSON, R.W., L. RESHEF (1997):  
Regulation of Phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene expression. *Annu. Rev. Natur.* 66, 581-611
- HART, I.C., J.A. BINES, S.C. MORANT, J.L. RIDLEY (1978):  
Endocrine control of energy metabolism in the cow: comparison in the levels of hormones (prolactin, growth hormones, insulin and thyroxine) and metabolism in the plasma of high and low yielding cattle at various stages of lactation. *J. Endocrinol.* 77, 333-341
- HARTMANN, H., J. HUBALD, H. MEYER, H. LITCKE (1980):  
Zur Funktion des endokrinen Pankreas beim Rind. 1. Mitteilung: Reaktionen in Abhängigkeit vom Alter der Tiere sowie Beziehungen zwischen Muttertier und Fetus bzw. Neugeborenem. *Arch. Exper. Vet. med.* 34, 777-790

- HARTWELL, J.R., M.J. CECAVA, S.S. DONKIN (2001):  
Rumen undegradable protein, rumen-protected choline and mRNA expression for enzymes in gluconeogenesis and ureagenesis in periparturient dairy cows.  
*J. Dairy Sci.* 84, 490-497.
- HAUGHIAN J.M., R. SARTORI, J.N. GUENTHER, A. GÜMEN, M.C. WILTBANK (2002):  
Extending the post-partum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate.  
*J. Dairy Sci.* 85, 3238-3249
- HAYIRLI, A., R.R. GRUMMER, E.V. NORDHEIM, P.M. CRUMP (2002):  
Animal and dietary factors affecting feed intake during the pre-fresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 85, 3430-3443
- HAYIRLI, A., R.R. GRUMMER, E.V. NORDHEIM, P.M. CRUMP (2003):  
Models for predicting dry matter intake of Holsteins during the prefresh transition period. *J. Dairy Sci.* 86, 1771-1779
- HAYIRLI, A., R.R. GRUMMER (2004):  
Factors affecting dry matter intake prepartum in relationship to etiology of peripartum lipid-related metabolic disorders: a review. *Can. J. Anim. Sci.* 84, 337-347
- HEITMANN, R.N., D.J. DAWES, S.C. SENSENIG (1987):  
Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant.  
*J. Nutr.* 117, 1174-1180
- HENRY, B.A., J.W. GODING, A.J. TILBROOK, F.R. DUNSHEA, D. BLACHE, I.J. CLARKE (2004):  
Leptin-mediated effects of undernutrition or fasting on luteinizing hormone and growth hormone secretion in ovariectomized ewes depend on the duration of metabolic perturbation. *J. Neuroendocrinol.* 16, 244-255
- HERBEIN, J.H., R.J. AIELLO, L.I. ECKLER, R.E. PERSON, R.M. AKERS (1985):  
Glucagon, insulin, growth hormone, and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68, 320-325
- HERDT, T.H., J.B. STEVENS, W.G. OLSON, V. LARSON (1981):  
Blood concentrations of beta-hydroxybutyrate in clinically normal Holstein-Friesian herds and in those with a high prevalence of clinical ketosis.  
*Am. J. Vet. Res.* 42, 503-506
- HERDT, T.H. (1988a):  
Fatty liver in dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 4, 269-287
- HERDT, T.H. (1988b):  
Metabolic diseases of ruminant livestock: fuel homeostasis in the ruminant.  
*Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 4, 213-231
- HERDT, T.H. (2000):  
Ruminant adaptation to negative energy balance. Influence of the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 16, 215-230
- HEUER, C., Y.H. SCHUKKEN, P. DOBBELAAR (1999):  
Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield and culling in commercial dairy herds.  
*J. Dairy Sci.* 82, 295-304
- HOCQUETTE, J.F., I. ORTIGEEES-MARTY, D. PETHICK, P. HERPIN, X. FERNANDEZ (1998):  
Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat producing animals. *Livest. Prod. Sci.* 56, 115-143

- HOFFMANN, B., R. HAMBURGER (1973):  
 Progesteron in der Milch: Radioimmunologische Bestimmung, Beziehungen zur Gelbkörperfunktion und zur Milchfettkonzentration. *Zuchthygiene*. **8**, 154-162
- HOGGARD, N., L. HUNTER, P. TRAYHURN, L.M. WILLIAMS, J.G. MERCER (1998):  
 Leptin and reproduction. *Proc. Nutr. Soc.* **57**, 421-427
- HOLTENIUS, K., S. AGENAS, C. DELAVALD, Y. CHILLIARD (2003):  
 Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J. Dairy Sci.* **86**, 883-891
- HOLTENIUS, P., K. HOLTENIUS (1996):  
 New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. *Zentralbl. Veterinärmed.* **A43**, 579-587
- HOLTENIUS, P. (1993):  
 Hormonal regulation related to the development of fatty liver and ketosis. *Acta Vet. Scand.* **89(Suppl.)**, 55-60
- HOLTER, J.B., M.J. SLOTNICK, H.H. HAYES, C.K. BOZAK, W.E. URBAN, M.L. MCGILLIARD (1990):  
 Effect of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy, nitrogen partitions, and lactation production responses. *J. Dairy Sci.* **73**, 3502-3511
- HONG-MEI, L., L. YAN-FEI, X. CHENG, X. CHUANG, N. SHU-LING, W. ZHE (2005):  
 Effect of energy diet on the expression of PC and PEPCK mRNA in the liver of periparturient cows. *Scientia Agricultura Sinica*. **38(12)**, 2515-2519
- HOUSEKNECHT, K.L., C.P. PORTOCARRERO (1998):  
 Leptin and its receptors: Regulators of whole-body energy homeostasis. *Dom. Anim. Endocrinol.* **15**, 457-475
- HORSTMANN, N. (2004):  
 Inter- und intraindividuelle Varianz von Futteraufnahme, Energiebilanz sowie metabolisch-endokrinologischen Leitparametern im Blut von hochleistenden Kühen in der Frühlaktation. Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- HOVE, K., (1978):  
 Insulin secretion in lactating cows: responses to glucose infused intravenously in normal, ketonemic, and starved animals. *J. Dairy Sci.* **61**, 1407-1413
- HUNTINGTON, G.B., R.L. PRIOR, R.A. BRITTON (1980):  
 Glucose and lactate absorption and metabolic interrelationships in lambs switched from low to high concentrate diets. *J. Nutr.* **110(9)**, 1904-1913
- HUNTINGTON, G. B. (1997):  
 Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* **75**, 852-867
- HUNTINGTON, G.B. (1990):  
 Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. *Reprod. Nutr. Dev.* **30**, 35-47
- HUTH, F.-W. (1995):  
*Die Laktation des Rindes. Analyse, Einfluss, Korrektur.*  
 Eugen Ullmer-Verlag, Stuttgart
- HUTJENS, M. (1996):  
 Rumen azidosis. (zitiert vom 23.11.07)  
<http://www.aces.uiuc.edu/~ansystem/dairyrep96/Acidosis.html>
- INGVARTSEN, K.L., H.R. ANDERSEN, J. FOLDAGER (1992):  
 Effect of sex and pregnancy on feed intake capacity of growing cattle. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Anim. Sci.* **42**, 40-46

- INGVARTSEN, K.L., A. DANFAER, P.H. ANDERSEN, J. FOLDAGER (1996):  
Prepartum feeding of dairy cattle: a review of the effect on prepartum metabolism, feed intake, production and health. *Stocarstvo*. 50, 401-409
- INGVARTSEN, K.L., J. FOLDAGER, J. AAES (1997):  
Effect of prepartum TMR energy concentration on feed intake, milk yield and energy balance in dairy heifers and cows. *J. Dairy Sci.* 80, 211(Abstr.)
- INGVARTSEN, K.L., N.C. FRIGGENS, P. FAVERDIN (1999):  
Food intake regulation in late pregnancy and early lactation.  
*Br. Soc. Anim. Sci. Occ. Publ.* 24, 37-54
- INGVARTSEN, K.L., R.J. DEWHURST, N.C. FRIGGENS (2003):  
On the relationship between lactation performance and health: Is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper.  
*Livest. Prod. Sci.* 83, 277-308
- INGVARTSEN, K.L., 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., Y.R. BOISCLAIR (2001):  
Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Dom. Anim. Endocrinol.* 21, 215-250
- INGVARTSEN, K.L. (2006):  
Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases.  
*Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 175-213
- JANES, A. N., T. E. C. WEEKES, D. G. ARMSTRONG (1985):  
Absorption and metabolism of glucose by the mesenteric-drained viscera of sheep fed on dried-grass or ground, maize-based diets.  
*Br. J. Nutr.* 54, 449-458
- JANOSI, S., M. KULCSAR, P. KORODI, L. KATAI, J. REICZIGEL, S.J. DIELEMAN, J.A. NIKOLIC, G. SALYI, P. RIBICZEY-SZABO, G. HUSZENICZA (2003):  
The energy imbalance related predisposition to mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows. *Acta. Vet. Hung.* 51, 409-424
- JENTSCH, W., H. WITTENBURG (1993):  
Ergebnisse aus vergleichenden Untersuchungen von Parametern der Pansenfermentation und zur Verdaulichkeit von Futterrationen bei Rind und Schaf.  
*Arch. Anim. Nutr.* 43, 345-361
- JIANG, G., B.B. ZHANG (2003):  
Glucagon and regulation of glucose metabolism.  
*Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284(4), E671-E678
- JITRAPAKDEE, S., A. VIDAL-PUIG, J.C. WALLACE (2006):  
Anaploretic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues.  
*Cell. Mol. Life Sci.* 63, 843-854
- JITRAPAKDEE, S., J.C. WALLACE (1999):  
Structure, function and regulation of pyruvate carboxylase.  
*Biochem. J.* 340(1), 1-16
- JI, S.Q., G.M. WILLIS, R.R. SCOTT, M.E. SPURLOCK (1998):  
Partial cloning and expression of the bovine leptin gene.  
*Anim. Biotechnol.* 9(1), 1-14

- JOHANNSEN, U., M. FÜRL, W. EHRENTAUT, W. DECKERT, D. GEINITZ (1991):  
 Untersuchungen zum Lipidgehalt und zur Funktion der Leber von Kühen in Abhängigkeit vom Laktationsstadium. *Mh. Vet.-Med.* 46, 670-674
- JOHANNSEN, U., S. MENGER, S. STAUFENBIEL, N. ROSSOW (1992):  
 Experimentelle Untersuchungen zur Leberverfettung der Milchkuh bei Futterrestriktion. *Mh. Vet.-Med.* 47, 567-577
- JORRITSMA, R., H. JORRITSMA, Y.H. SCHUKKEN, P.C. BARTLETT, T. WENSING, G.H. WENTINK (2001):  
 Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands. *Livest. Prod. Sci.* 68, 53-60
- JORRITSMA, R., F.J. RUBIO POMAR, M.M. BEVERS, T.A.M. KRUIP, J.P.T.M. NOORDHUIZEN, T. WENSING (2003a):  
 Possible clues concerning the adverse relationship between dairy cow fertility and negative energy balance. *Proc. 11<sup>st</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.* Frederiksberg, Denmark. *ACTA Vet. Scand.* 44(Suppl.1), P42
- JORRITSMA, R., T. WENSING, T.A.M. KRUIP (2003b):  
 Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial dutch dairy herds. *Theriogenology.* 54, 1065-1074
- JORRITSMA, R., T. WENSING, T.A.M. KRUIP (2003c):  
 Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet. Res.* 34, 11-26
- JORRITSMA, R., P. LANGENDIJK, T.A.M. KRUIP, T. WENSING, J.P.T.T.M. NOORDHUIZEN (2005):  
 Associations between energy metabolism, LH pulsatility and first ovulation in early lactating cows. *Reprod. Dom. Anim.* 40, 68-72
- JOUANY, J.P. (2006):  
 Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 250-264
- JUCHEM, S.O., F.A.P. SANTOS, H. IMAIZUMI, A.V. PIRES, E.C. BARNABE (2004):  
 Production and blood parameters of Holstein cows treated prepartum with sodium, monensin or propylene glycol. *J. Dairy Sci.* 87, 680-689
- KAHN, C.R. (1978):  
 Insulin resistance, insulin insensitivity and insulin unresponsiveness: A necessary distinction. *Metabolism.* 27(Suppl.2), 1893-1902
- KAHN, C.R. (1980):  
 Role of insulin receptors in insulin-resistant states. *Metabolism.* 29, 455-466
- KANITZ, W., F. BECKER, G. DIETEL, N. REINSCH, R. STAUFENBIEL (2003):  
 Beziehungen zwischen Milchleistung, Energieversorgung, Fruchtbarkeit unter den Bedingungen von Hochleistung beim Rind. *Züchtungskunde.* 75, 489-498
- KAPPEL, L.C., R.H. INGRAHAM, E.B. MORGAN, L. ZERINGUE, D. WILSON, D.K. BABOCK (1984):  
 Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2607-2612
- KARCHER, E.L., M.M. PICKETT, G.A. VARGA, S.S. DONKIN (2007):  
 Effect of dietary carbohydrate and monensin on expression of gluconeogenic enzymes in the liver of transition dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85, 690-699

- KARG, H. (1994):  
Hormonale Regulation des Wachstums.  
In: DÖCKE, F. (Hrsg.): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*. 3. Auflage,  
Gustav Fischer-Verlag, Jena und Stuttgart, pp. 176-203
- KAUPPINEN, K. (1983):  
Influence of bovine ketosis and liver damage on reproductive performance and  
annual milk yield.  
*Proc. 5<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, Uppsala, Schweden, 124-128
- KAWASHIMA, C., E. KANEKO, C. AMAYA MONTOYA, M. MATSUI,  
N. YAMAGISHI, N. MATSUNAGA, M. ISHII, K. KIDA, Y.-I. MIYAKE,  
A. MIAMOTO (2006):  
Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and  
subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows.  
*J. Reprod. Dev.* 52, 479-486
- KAWASHIMA, C., M. SAKAGUCHI, T. SUZUKI, Y. SASAMOTO,  
Y. TAKAHASHI, M. MATSUI, A. MIAMOTO (2007a):  
Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first  
follicular wave postpartum. *J. Reprod. Dev.* 53, 113-120
- KAWASHIMA, C., S. AMAYA MONTOYA, Y. MASUDA, E. KANEKO,  
M. MATSUI, T. SHIMIZU, N. MATSUNAGA, K. KIDA, Y.-I. MIYAKE,  
M. SUSUKI, A. MIAMOTO (2007b):  
Short communication: A positive relationship between the first ovulation postpartum  
and the increasing ratio of milk yield in the first part of lactation in dairy cows.  
*J. Dairy Sci.* 90, 2279-2282
- KEISLER, D.H., J.A. DANIEL, C.D. MORRISON (1999):  
The role of leptin in nutritional status and reproductive function.  
*J. Reprod. Fertil.* 54(Suppl.), 425-435
- KELLER, U., P.P. GERBER, W. STAUFFACHER (1988):  
Fatty acid-independent inhibition of hepatic ketone body production by insulin in  
humans. *Am. J. Physiol.* 254, E694-E701
- KESSEL, S., M. STROEHL, H.H.D. MEYER, S. HISS, H. SAUERWEIN,  
F.J. SCHWARZ, 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
- KIRCHGESSNER, M. (1992):  
Tierernährung: Kohlenhydratstoffwechsel des Wiederkäuers.  
8. Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt a.M.. 42-52
- KLAWUHN, D. (1992):  
Vergleich der Rückenfettdicke mit dem über die Gesamtkörperwasserbestimmung  
ermittelten Körperfettgehalt bei Rindern.  
Vet.-Med. Diss., Humboldt-Universität, Berlin
- KLEPPE, B.B., R.J. AIELLO, R.R. GRUMMER, L.E. ARMENTANO (1988):  
Triglycerid accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat  
hepatocytes in vitro. *J. Dairy Sci.* 71, 1813-1822
- KOKKONEN, T., J. TAPONEN, T. ANTTILA, L. SYRJALA-QVIST,  
C. DELAVALD, Y. CHILLIARD, M. TUORI, 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. (1989):  
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Gustav Fischer-Verlag, Jena und Stuttgart

- KOLB, E. (2005):  
Kühe bedarfsgerecht mit Energie versorgen. *Bauernzeitung*. 46(18), 41-43
- KOLLER, A., M. REIST, J.W. BLUM, U. KÜPFER (2003):  
Time empty and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 38, 41-49
- KOMATSU, T., F. ITOH, S. KUSHIBIKI, K. HODATE (2005):  
Changes in gene expression of glucose transporters in lactating and nonlactating cows. *J. Dairy Sci.* 83, 557 - 564
- KÖRNER, E.M., E. RENNER, R. SCHMITD (1977):  
Zur Ermittlung euterkrankheitsverdächtiger Kühe mit Hilfe der Laktosebestimmung von Einzelmilchproben. *Arch. Lebensmittelhyg.* 28, 181-188
- KUMAR, B., S.M. FRANCIS, J.M. SUTTIE, M.P. THOMPSON (1998):  
Expression of obese mRNA in genetically lean and fat selection lines of sheep. *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* 120, 543-548
- KUME, S., K. NONAKA, T. OSHITA (2003):  
Relationship between parity and mineral status in dairy cows during the periparturient period. *Anim. Sci. J.* 74, 211-215
- KUNZ, P.L., J.W. BLUM, I.C. HART, H. BICKEL, J. LANDIS (1985):  
Effects of different energy intake before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.* 40, 219-231
- KUPSCH, J.A. (2005):  
Untersuchungen zur ultrasonographischen Messung der Rückenfettdicke und der Rückenfettdickenänderung von Milchkühen während der Trockenstehphase und Laktation. *Vet.-Med. Diss., Fachber. Veterinärmed. Freie Universität Berlin, Berlin*
- KRAUS-FRIEDMANN, N., L. FENG (1996):  
The role of intracellular Ca<sup>2+</sup> in the regulation of gluconeogenesis. *Metabolism.* 45(3), 389-403
- KREBS, H.A. (1966):  
Bovine Ketosis. *Vet. Rec.* 78(6), 187-191
- KREIKEMEIER, K. K., D. L. HARMON, R. T., Jr. BRANDT, T. B. AVERY, D. E. JOHNSON (1991):  
Small intestinal starch digestion in steers: Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 69, 328-338
- KREUTZIG, T. (1994):  
Biochemie. 6. Auflage,  
Jungjohann Verlagsgesellschaft, Neckarsulm, Lübeck, Ulm
- KRUIP, T.A.M., G.A.L. MEIJER, T. RUKKWAMSUK, T. WENSING (1999):  
Investigation into mechanisms of reduction in fertility of high yielding cows. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, Utrecht, Niederlande. 183-190
- LEAN, I. J., M. L. BRUSS, R. L. BALDWIN, H. F. TROUTT (1992):  
Bovine ketosis: a review. II. Biochemistry and prevention. *Veterinary Bulletin.* 62(1), 1-14
- LEMAGIGRE, F.P., G.G. ROUSSEAU (1994):  
Transcriptional control of genes that regulate glucolysis and gluconeogenesis in adult liver. *Biochem. J.* 303, 1-14
- LEMONS, J.A., H.C. MOOREHEAD, G.P. HAGE (1986):  
Effects of fasting on gluconeogenic enzymes in the ovine fetus. *Pediatr. Res.* 20(7), 676-679

- LE MOSQUET, S., N. RIDEAU, H. RULQUIN, P. FAVERDIN, J. SIMON, R. VERITÉ (1997):  
Effects of a duodenal glucose infusion on the relationship between plasma concentrations of glucose and insulin in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 2854-2865
- LEYDOLPH, W., A. ULRICH (1952):  
Untersuchungen über das Verhalten des Milchzuckers in der Milch von schwarzbunden Tieflandrindern. *Milchwissenschaft.* 7, 328-333
- LIEFERS, S.C., R.F. VEERKAMP, M.F.W. TE PAS, C. DELAVAUD, Y. CHILLIARD, T. VAN DER LENDE (2003):  
Leptin level in relation to energy balance, milk yield, dry matter intake, live weight, and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 798-807
- LINDSAY, D.B. (1970):  
In: A. T. PHILLIPSON (Hrsg.): *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Newcastle upon Tyne: Oriel Press, pp. 438-451
- LING, K., A. WALDMANN, J. SAMARÜTTEL, H. JAAKSON, T. KAART, A. LEESMÄE (2004):  
Field trial and blood metabolites, body condition score (BCS) and their relation to the recurrence of ovarian cyclicity in Estonian Holstein cows.  
*Proc. 12<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, East Lansing, Michigan, USA. 12-22
- LITHERLAND, N.B., H.M. DANN, A.S. HANSEN, J.K. DRACKLEY (2003):  
Prepartum nutrient intake alters metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl.1), 105-106(Abstr.)
- LLEWELLYN, S., R. FITZPATRICK, D.A. KENNY, J.J. MURPHY, R.J. SCARAMUZZI, D.C. WATHES (2007):  
Effect of negative energy balance on the insulin-like growth factor system in pre-recruitment ovarian follicles of post partum dairy cows. *Reproduction.* 133, 627-639
- LOMAX, M.A., G.D. BAIRD, C.B. MALLINSON, H.W. SYMONDS, S.R. SHAW (1979):  
Differences between lactating and non-lactating dairy cows in concentration and secretion rate of insulin. *Biochem. J.* 180, 281-289
- LOMAX, M.A., G.D. BAIRD (1983):  
Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow: Effects of lactation and fasting. *Br. J. Nutr.* 49, 481-496
- LOMAX, M.A. (1992):  
Visceral and hepatic metabolism in relation to ruminant ketosis.  
*Proc. 8<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, Bern, Schweiz. 184-197
- LOOR, J.J., H.M. DANN, J.A. JANOVICK GURETZKY, R.E. EVERTS, R. OLIVEIRA, C.A. GREEN, N.B. LITHERLAND, S.L. RODRIGUEZ-ZAS, H.A. LEWIN, J.K. DRACKLEY (2006):  
Plane of nutrition prepartum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. *Physiol. Genomics.* 27, 29-41
- LOTTHAMMER, K.-H., H.-J. BOEHNKE, M. MORAWIETZ (1988):  
Beziehungen zwischen verschiedenen Blutparametern als Kriterien für Stoffwechselstörungen und den Milchzellgehalt bei Milchrindern. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 95, 379-384
- LOTTHAMMER, K.-H. (1991):  
Beziehungen zwischen einigen Blut- und Milchinhaltsstoffen als Indikatoren der Energieversorgung und der Fruchtbarkeit sowie Euter- und Stoffwechselstörungen bei Milchrindern. *Mh. Vet-Med.* 46, 639-643

- LÖFFLER, G., P.E. PETRIDES (1997):  
Stoffwechsel der Kohlenhydrate. In: LÖFFLER, G., P.E. PETRIDES. (Hrsg.):  
*Biochemie und Pathobiochemie*. 5. Auflage,  
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LUCY, M.C., C.R. STAPLES, F.M. MICEL, 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
- LUCY, M.C., C.R. STAPLES, W.W. THATCHER, P.S. ERICKSON,  
R.M. CLEALE, J.L. FIRKINS, J.H. CLARK, M.R. MURPHY,  
B.O. BRODIE (1992):  
Influence of diet composition, dry matter intake, milk production, and fertility in dairy  
cows. *Anim. Reprod.* 54, 323-331
- LUCY, M.C. (2000):  
Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors  
in cattle. *J. Dairy Sci.* 83, 1635-1647
- LUCY, M.C. (2001):  
Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?  
*J. Dairy Sci.* 84, 1277-1293
- LUCY, M.C. (2004):  
Physiological mechanisms leading to reproductive decline in dairy cattle.  
(zitiert vom 05.06.2005)  
[http://www.ansci.umn.edu/petersen\\_symposium/lucy.pdf](http://www.ansci.umn.edu/petersen_symposium/lucy.pdf)
- MAFFEI, M., J. HALAAS, E. RAVUSSIN, R.E. PRATLEY, G.H. LEE,  
Y. ZHANG, H. FEI, S. KIM, R. LALLONE, S. RANGANATHAN,  
P.A. KERN, J.M. FRIEDMANN (1995):  
Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and of RNA in  
obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1, 1155-1161
- MALLARD, B.A., L.C. WAGTER, M.J. IRELAND, J.C. DEKKERS (1997):  
Effect of growth hormone, insulin-like growth factor-I and cortisol on periparturient  
antibody response profiles of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 60, 61-76
- MANN, G.E., S.J. MANN, D. BLACHE, R. WEBB (2005):  
Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting  
reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring  
during the post partum period. *Anim. Reprod. Sci.* 88, 191-202
- MANSFELD, R., W. GRÜNEBERG, W. THIEMANN, E. GRUNERT (1996):  
Statistische Auswertung zur Nutzung von Stoffwechselprofilen in der  
Herdendiagnostik in Milcherzeugerbetrieben. *Züchtungskunde.* 68, 325-345
- MARKUSFELD, O., N. GALON, E. EZRA (1997):  
Body condition score, health, yield und fertility in dairy cows. *Vet. Rec.* 141, 67-72
- MARKUSFELD, O. (1985):  
Relationship between overfeeding, metritis and ketosis in high yielding dairy cows.  
*Vet. Rec.* 116, 489-491
- MARR, A.L., M.S. PIEPENBRINK, T.R. OVERTON, M.C. LUCY,  
W.R. BUTLER (2002):  
The somatotropic axis and lipid metabolism in transition dairy cows in relation to  
timing of first postpartum ovulation. *J. Dairy Sci.* 85(Suppl.1), 66
- MASSILLON, D., I.J. ARINZE, C. XU, F. BONE (2003):  
Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in cultured hepatocytes and  
H4IIE cells by short-chain fatty acids. *J. Biol. Chem.* 278, 40694-40701

- MASUZAKI, H., Y. OGAWA, N. ISSE, N. SATOH, T. OKAZAKI, M. SHIGEMOTO, K. MORI, N. TAMURA, K. HOSODA, Y. YOSHIMASA (1995):  
Human obese gene expression. Adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes*. 44, 855-858
- MATTHE, A., P. LEBZIEN, G. FLACHOWSKY (2000):  
Zur Bedeutung von Bypass-Stärke für die Glucoseversorgung von hochleistenden Milchkühen. In: DROCHNER, W., G. FLACHOWSKY, J. KAMPHUES, J. LEIBETSEDER, E. PFEFFER, S. WOLFRAM. (Hrsg.):  
*Übersichten zur Tierernährung*. 1. Auflage, DLG-Verlag, pp. 1-64
- MARTIN, C., N.B. KRISTENSEN, P. HUTANEN (2001):  
Comparison of non-tracer and tracer methods for determination of volatile fatty acid production rate in the rumen of sheep fed on two levels of intake.  
*Br. J. Nutr.* 86, 331-340
- McGUIRE, M.R., J.M. GRINARII, D.A. DWYER, D.E. BAUMAN (1995a):  
Role of insulin in the regulation of mammary synthesis of fat and protein.  
*J. Dairy Sci.* 78, 816-824
- McGUIRE, M.R., D.E. BAUMAN, D.A. DWYER, W.S. COHICK (1995b):  
Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *J. Nutr.* 125, 493-502
- McNAMARA, J.P. (1991):  
Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation.  
*J. Dairy Sci.* 74, 706-719
- McNAMARA, J.P. (2000):  
Integrating genotype and nutrition on utilization of body reserves during lactation of dairy cattle. In: CRONJE, P.B. (Hrsg.): *Symposium on Ruminant Physiology*. CAB International, London, UK, pp. 353-370
- McCUSKER, R.H. (1998):  
Controlling insulin-like growth factor activity and the modulation of insulin-like growth factor binding protein and receptor binding. *J. Dairy Sci.* 81, 1790-1800
- MEIKLE, A., M. KULCSAR, Y. CHILLIARD, H. FEBEL, C. DELAUAUD, D. CAVESTANY, P. CHILIBROSTE (2004):  
Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. 127, 727-737
- MEINECKE, B. (2000):  
Endokrinologie. Reproduktion beim Säugetier: Reproduktion beim weiblichen Tier. In: VON ENGELHARDT, W., G. BREVES. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. 1. Auflage, Enke im Hippokrates-Verlag, Stuttgart, pp. 514-535
- METCALF, J.A., T.E.C. WEEKES (1988):  
Effect of feeding level on insulin sensitivity during lactation in the ewe.  
*Proc. Nutr. Soc.* 47, 150(Abstr.)
- MILLS, S.E., D.C. BEITZ, J.W. YOUNG (1986):  
Evidence for impaired metabolism in liver during induced lactation ketosis of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69, 362-370
- MOORE, F. (1997):  
Serum chemistry profiles in dairy cows – a herd management tool?  
*Veterinary Medicine*. 11, 986-991
- MOORE, M.C., C.C. CONNOLLY, A.D. CHERRINGTON (1998):  
Autoregulation of hepatic glucose production.  
*Eur. J. Endocrinol.* 138, 240-248

- MURONDOTI, A., R. JORRITSMA, A.C. BEYNEN, T. WENSING, M.J.H. GEELEN (2004):  
Activities of the enzymes of hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows with induced fatty liver. *J. Dairy Res.* 71, 129-134
- NAFIKOV, R.A., B.N. AMETAJ, G. BOBE, K.J. KOELER, J.W. YOUNG, D.C. BEITZ (2006):  
Prevention of fatty liver in transition dairy cows by subcutaneous injections of glucagon. *J. Dairy Sci.* 89, 1533-1545
- NAFIKOV, R.A., D.C. BEITZ (2007):  
Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J. Nutr.* 137, 702-705
- NARKEWICZ, M.R., T.D. CARVER, W.W. JR. HAY (1993):  
Induction of cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in the ovine fetal liver by chronic fetal hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Pediatr. Res.* 33, 493-496
- NAUMANN, C., R. BASLER (2000):  
Methodenbuch der landwirtschaftlichen Forschungs- und Untersuchungsanstalt, Biochemische Untersuchung von Futtermitteln. 4. Auflage, VDLUFA-Verband, Darmstadt
- NEBEL, R.L., W.D. WHITTIER, B.G. CASSELL, J.H. BRITT (1987):  
Comparison of on-farm and laboratory milk progesterone assays for identifying errors in detection of estrus and diagnosis of pregnancy. *J. Dairy Sci.* 70, 1471-1476
- NEBEL, R.L., M.L. MCGILLARD (1993):  
Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3257-3268
- NIELSEN, N.I., K.L. INGVARTSEN (2004):  
Propylene glycol for dairy cows - A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115, 191-213
- NOCEK, J.E., W.P. KAUTZ, J.A. LEEDLE, E. BLOCK (2003):  
Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. *J. Dairy Sci.* 86, 331-335
- NOCEK, J.E., S. TAMMINGA (1991):  
Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629
- NORDLIE, R.C., J.D. FORSTER, A.J. LANGE (1999):  
Regulation of glucose production by the liver. *Annu. Rev. Nutr.* 19, 379-406
- OBESE, F., R. STOCKDALE, K. MACMILLAN, A. EGAN, S. HUMPHRYS (2004):  
Effects of body condition score (BCS) at calving and level of grain feeding during early lactation on plasma concentrations of insulin-like growth factor-I (IGF-I), selected blood metabolites and resumption of ovarian cyclicity in pasture-fed dairy cows. *Proc. 23<sup>rd</sup> World Buiatrics Congress*, Québec, Canada. 34(Abstr.)
- O'BRIEN, R.M., D.K. GRANNER (1990):  
PEPCK gene as a model of inhibitory effects of insulin on gene transcription. *Diabetes Care.* 13, 327-334
- O'BRIEN, R.M., E.L. NOISIN, A. SUWANICHKUL, T. YAMASAKI, P.C. LUCAS, J.C. WANG, D.R. POWELL, D.K. GRANNER (1995):  
Hepatic nuclear factor 3- and hormone-regulated expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase and insulin-like growth-factor-binding protein 1 genes. *Mol. Cell. Biol.* 15(3), 1747-1758

- OCYLOK, A. (2007):  
Futteraufnahme und endokrinologische Leitparameter hochleistender Milchkühe in aufeinanderfolgenden Laktationen.  
Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- OHGI, T., S. KAMIMURA, Y. NINEZAKI, M. TAKAHASHI (2005):  
Relationship between fat accumulation in the liver and energy intake, milk fat yield and blood metabolites in dairy cows. *Anim. Sci. J.* 76, 549-557
- OIKAWA, S., G.R. OETZEL (2006):  
Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipodosis. *J. Dairy Sci.* 89, 2999-3005
- OPSOMER, G., Y.T. GROHN, J. HERTL, M. CORYN, H. DELUYKER, A.D. DE KRUIF (2000):  
Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology.* 53, 841-857
- ORDWAY, R.S., V.A. ISHLER, G.A. VARGA (2002):  
Effects of sucrose supplementation on dry matter intake, milk yield, and blood metabolites of periparturient Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 879-888
- ORTIGUES-MARTY, I., J. VERNET, L. MAJDOUB (2003):  
Whole body glucose turnover in growing and non-productive adult ruminants: Meta-analysis and review. *Reprod. Nutr. Dev.* 43, 371-383
- OVERTON, T.R., J.K. DRACKLEY, G.N. DOUGLAS, L.S. EMMERT, J.H. CLARK (1998):  
Hepatic gluconeogenesis and whole-body protein metabolism of periparturient dairy cows as affected by source of energy and intake of the prepartum diet.  
*J. Dairy Sci.* 81(Suppl.1), 295(Abstr.)
- OVERTON, T.R., J.K. DRACKLEY, C.J. OTTEMANN-ABBAMONTE, A.D. BEAULIEU, L.S. EMMERT, J.H. CLARK (1999):  
Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *J. Anim. Sci.* 77, 1940-1951
- OVERTON, T.R. (1998):  
Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis in the transition dairy cow.  
*Proc. Cornell Nutr. Conf. for Feed Manuf.*,  
Cornell Univ., Ithaca, New York. 237-246
- OVERTON, T.R. (2001):  
Healthy livers make healthy cows. *Adv. Dairy Technol.* 13, 169-180
- OWEN, M.R., A.P. HALESTRAP (1993):  
The mechanism by which mild respiratory chain inhibitors inhibit hepatic gluconeogenesis. *Biochem. Biophys. Acta.* 1142(1-2), 11-22
- OWENS, F., D. SECRIST, W. HILL, D. GILL (1998):  
Acidosis in cattle: A review. *J. Animal Sci.* 76, 275-286
- PATTON, R.S., C.E. SORENSON, 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
- PATTON, J., D.A. KENNY, J.F. MEE, F.P.O'MARA, D.C. WATHES, M. COOK, J.J. MURPHY (2006):  
Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 1478-1487
- PATTON, J., D.A. KENNY, McNAMARA, J.F. MEE, F.P.O'MARA, M.G. DISKIN, J.J. MURPHY (2007):  
Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 90, 649-658

- PEDRON, O., F. CHELI, E.M. SENATOR, D. BAROLI, 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
- PETRY, H. (2000):  
Energiestoffwechsel.  
In: VON ENGELHARDT, W., G. BREVES. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*.  
Enke im Hippokrates-Verlag, Stuttgart, pp. 435-445
- PETERSSON, K.-J., E. STRANDBERG, H. GUSTAFSSON,  
B. BERGLUND (2006):  
Environmental effects on progesterone profile measures of dairy cow fertility.  
*Anim. Reprod. Sci.* 91, 201-214
- PFAFFL, M.W. (2001):  
A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR.  
*Nucleic Acid Res.* 29, 2002-2007
- PILKIS, S.J., D.K. GRANNER (1992):  
Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis.  
*Annu. Rev. Physiol.* 54, 885-909
- PIRES, J.A.A., A.H. SOUZA, R.R. GRUMMER (2007):  
Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90, 2735-2744
- PRANGE, R.W. C.L. DAVIS, J. H. CLARK (1978):  
Propionat production in the rumen of Holstein steers fed either a control or monensin supplemented diet. *J. Anim. Sci.* 46, 1120-1124
- PRANGE, D. (2001):  
Einfluss der Zufütterung von Propylenglykol im peripartalen Zeitraum auf Tier- und Stoffwechselgesundheit sowie Reproduktions- und Milchleistung bei hochleistenden Milchkühen. Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- PULLEN, D.L., D.L. PALMQUIST, R.S. EMERY (1989):  
Effects of days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma free fatty acids into plasma triglycerides. *J. Dairy Sci.* 72, 49-58
- PULLEN, D.L., J.S. LIESMAN, 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
- PUSHPAKUMARA, P.G.A., N.H. GARDNER, C.K. REYNOLDS,  
D.E. BEEVER, D.C. WATHES (2003):  
Relationship between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 60, 1165-1185
- REID, I.M., G.J. ROWLAND, A.M. DEW, R.A. COLLINS, C.J. ROBERTS,  
R. MANSTON (1983):  
The relationship between post-parturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. Agric. Sci.* 101, 473-480
- REID, I.M., C.J. ROBERTS (1983):  
Subclinical fatty liver in dairy cows. *Irish Vet. J.* 37, 104-110
- REID, I.M., C.J. ROBERTS, G.D. BAIRD (1980):  
The effect of underfeeding during pregnancy and lactation on structure and chemistry of bovine liver and muscle. *J. Agric. Sci.* 94, 239-245
- REID, I.M. (1980):  
Incidence and severity of fatty liver in dairy cows. *Vet. Rec.* 107, 281-284
- REIST, M., A. KOLLER, A. BUSATO, U. KÜPFER, J.W. BLUM (2000):  
First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology.* 54, 685-701

- REIST, M., D. EDRIN, D. VON EUW, K. TSCHUEMPERLIN, H. LEUENBERGER, 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. ERDING, D. VON EUW, K.M. TSCHUEMPERLIN, H. LEUENBERG, C. DELAUAUD, Y. CHILLIARD, H.M. HAMMON, N. NUNZI, 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, 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, C.K., D.L. HARMON (1994):  
Absorption and delivery of nutrients for milk protein synthesis by portal-drained viscera. *J. Dairy Sci.* 77, 2787-2808
- RICHARDS, S. (2004):  
Leberfunktion der Hochleistungskuh. Nutztierpraxis aktuell, Agrar- und Veterinärakademie (AVA), 10. Ausgabe (zitiert vom 28.05.08)  
[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, H. RULQUIN (2002):  
Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 595-606
- RIZOS, D., D.A. KENNY, W. GRIFFIN, K.M. QINN, P. DUFFY, F.G. MILLIGAN, J.F. ROCHE, M.P. BOLAND, P. LONERGAN (2008):  
The effect of feeding propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular dynamics and on metabolic parameters related to fertility. *Theriogenology.* 69, 688-699
- RIZZA, R.A., L.J. MANDORINO, J.E. GERICH (1981):  
Mechanisms of insulin resistance in man. *Am. J. Med.* 70, 169-176
- ROGNSTAD, R. (1979):  
Rate-limiting steps in metabolic pathways. *J. Biol. Chem.* 254, 1875-1878
- ROSENBERGER, G., G. DIRKSEN, H.-D. GRÜNDER, M. STÖBER (1990):  
Die klinische Untersuchung des Rindes. 3. Auflage, Paul Parey-Verlag, 216
- ROSSOW, N., R. STAUFENBIEL, B. STAUFENBIEL, R. BAUER (1989):  
Stoffwechselüberwachung bei Milchkühen durch Bewertung und Korrektur des Körperfettansatzes. *Mh. Vet.-Med.* 44, 590-594
- ROSSOW, N., B. STAUFENBIEL, U. JAKOBI (1990):  
Die Nutzung von Milchinhaltsstoffen für die Stoffwechselüberwachung bei Milchkühen. *Mh. Vet.-Med.* 45, 686-690
- ROSSOW, N., R. STAUFENBIEL (1983):  
Störung des Lipidstoffwechsels bei der Milchkuh unter besonderer Berücksichtigung der Lipolyse. *Mh. Vet.-Med.* 38, 404-409
- ROSSOW, N., L. JÄKEL (2004):  
Gesundheits- und Fruchtbarkeitsmanagement in Milchkuhbeständen - Teil 4: Managementaufgabe im präpartalen Abschnitt der Transitperiode (Trockenstehperiode - 2). (zitiert vom 22.05.2007)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/88/artikel\\_88.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/88/artikel_88.pdf)

- ROSSOW, N. (1990):  
Gestaltung der Trockenstehperiode zur Verhütung von Stoffwechsel- und Fertilitätsstörungen bei Milchkühen. *Mh. Vet.-Med.* 45, 426-431
- ROSSOW, N. (2001):  
Die Energiebilanzsituation der Milchkuh in der Früh-laktation.  
(zitiert vom 22.05.2005)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/49/artikel\\_49.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/49/artikel_49.pdf)
- ROSSOW, N. (2002):  
Die Führung der Milchkuh durch die Trockensteh- und Transitperiode.  
1. Teil: Stoffwechselsituation im geburtsnahen Zeitraum. (zitiert vom 22.05.2005)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/6/artikel\\_6.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/6/artikel_6.pdf)
- ROSSOW, N. (2003a):  
Allgemeine Grundlagen des Fettstoffwechsels der Hochleistungskuh.  
(zitiert vom 22.05.2005)  
[www.portal-rind.de/portal/data/artikel/43/artikel\\_43.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/43/artikel_43.pdf)
- ROSSOW, N. (2003b):  
Das Fettmobilisierungssyndrom der Milchkuh. (zitiert vom 22.05.2005)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/45/artikel\\_45.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/45/artikel_45.pdf)
- ROSSOW, N. (2003c):  
Das Glucosebeschaffungsproblem der Hochleistungskuh. (zitiert vom 22.05.2005)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/51/artikel\\_51.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/51/artikel_51.pdf)
- ROSSOW, N. (2004):  
Nutzung der Ergebnisse der Milchleistungsprüfung für die Fütterungs- und Stoffwechselkontrolle. (zitiert vom 22.05.2005)  
[http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/68/artikel\\_68.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/68/artikel_68.pdf)
- RUIZ, F.J., P.A. ALTENACU, R.D. SMITH (1989):  
Evaluation of on-farm milk progesterone tests to determine nonpregnant cows and to prevent insemination errors. *J. Dairy Sci.* 72, 2718-2727
- RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, M.J.H. GEELLEN (1998):  
Effect of overfeeding during the dry period and regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 81, 2904-2911
- RUKKWAMSUK, T., T.A.M. KRUIP, M.J.H. GEELLEN (1999a):  
Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the parturient period.  
*Vet. Quart.* 21, 71-77
- RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, M.J.H. GEELLEN (1999b):  
Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 82, 1164-1169
- RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, M.J.H. GEELLEN (1999c):  
Effect of fatty liver and hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows.  
*J. Dairy Sci.* 82, 500-505
- RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, T.A.M. KRUIP (1999d):  
Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and the first ovulation in postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 51, 1133-1142
- RUKKWAMSUK, T., T.A.M. KRUIP, G.A. MEIJER, T. WENSING (1999e):  
Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period. *J. Dairy Sci.* 82, 280-287
- RUKKWAMSUK, T., M.J.H. GEELLEN, T.A.M. KRUIP, 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

- RUKKWAMSUK, T. (1999):  
 Negativ energy balance in postparturient dairy cows: consequences and adaptations.  
 PhD Thesis, Utrecht University, Utrecht
- RUSSELL, R.W., L. MESS, S.P. SCHMIDT, J.W. YOUNG (1986):  
 Effects of body size on kinetics of glucose metabolism and on nitrogen balance in growing cattle. *Nutr.* 116, 2229-2235
- RUSSEL, A.J.F., I.A. WRIGHT (1983):  
 The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows.  
*Anim. Prod.* 37, 335-343
- SACHS, M. (1987):  
 Fütterungsprophylaxe von Stoffwechselstörungen bei Hochleistungskühen.  
*Prakt. Tierarzt.* 68, (colleg. vet. XVIII) 68-70
- SALLMANN, H.P., H. FUHRMANN (2000):  
 Physiologische Aspekte der Leberfunktion.  
 In: VON ENGELHARDT, W., G. BREVES. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*.  
 Enke im Hippokrates-Verlag, Stuttgart, pp. 422-434
- SALTO, R., M.D. GIRON, M. DEL MAR SOLA, A.M. VARGAS (1999):  
 Evolution of pyruvate carboxylase and other biotin containing enzymes in developing rat liver and kidney. *Mol. Cell. Biochem.* 200, 111-117
- SAMARÜTEL, J., K. LING, A. WALDMANN, H. JAAKSON, A. LEESMÄE, T. KAART (2004):  
 Ovulatory cycles, metabolic profiles, body condition scores and their relation to fertility of multiparous Holstein dairy cows.  
 12<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim., East Lansing, Michigan, USA
- SAMARÜTEL, J., A. WALDMANN, K. LING, H. JAAKSON, T. KAART, A. LEESMÄE, O. KÄRT (2008):  
 Relationships between luteal activity, fertility, blood metabolites and body condition score in multiparous Estonian Holstein dairy cows under different management.  
*J. Dairy Res.* 75, 485-490
- SANO, H., S. NARAHARA, T. KONDO, H. TAKAHASHI, Y. TERASHIMA (1993):  
 Insulin in responsiveness to glucose and tissue responsiveness to insulin during lactation in dairy cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 10, 191-197
- SAS INSTITUTE INC. (2004):  
*SAS/STAT® 9.1 User's Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- SASAKI, K., T.P. CRIPE, S.R. KOCH, T.L. ANDREONE, D.D. PETERSEN, E.G. BEAL, D.K. GRANNER (1984):  
 Multihormonal regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene transcription.  
*J. Biol. Chem.* 259, 15242-15251
- SARA, V.R., K. HALL (1990):  
 Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol. Rev.* 70, 591-614.
- SATO, H., M. MATSUMOTO, S. HANASAKA (1999):  
 Relation between plasma acetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate, FFA, glucose levels and energy nutrition in lactating dairy cows. *J. Vet.-Med. Sci.* 61(5), 447-451
- SAVIO, J.D., M.B. BOLAND, N. RYNES, J.F. ROCHE (1990):  
 Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows.  
*J. Reprod. Fertil.* 88, 569-579
- SAVON, S., P. HAKIMI, R. HANSON (1993):  
 Expression of the genes for the mitochondrial and cytosolic forms of phosphoenolpyruvate carboxykinase in avian liver during development.  
*Biol. Neonate.* 64, 62 - 68

- SCHEUER, B.H., Y. ZBINDEN, P. SCHNEITER, L. TAPPY, J.W. BLUM, H.M. HAMMON (2006):  
Effects of colostrum feeding and glucocorticoid administration on insulin-dependent glucose metabolism in neonatal calves.  
*Dom. Anim. Endocrinol.* 31, 227-245
- SCHILLO, K.K. (1992):  
Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70, 1271-1282
- SCHLERKA, G., J. FILAR (1981):  
Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säure- Base- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. *Wiener Tierärztl. Mschr.* 68, 436-441
- SCHOPPER, D.R., R. SCHEMER, R. CLAUS (1989):  
Analyse der Fruchtbarkeitssituation von Milchkühen post partum in Praxisbetrieben anhand von Progesteronprofilen. *Zuchthygiene.* 24, 67-78
- SCHRÖDER, U.J., R. STAUFENBIEL (2002):  
Konditionsbeurteilung per Ultraschall in der Herdenbetreuung: Teil 1: Rückenfettdicke und Milchleistung. *Tierärztl. Praxis.* 30, 362-368
- SCHRÖDER, U.J., R. STAUFENBIEL (2006):  
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
- SCHRÖDER, U. (2000):  
Untersuchungen zur Konditionsbeurteilung mittels ultrasonographischer Messung der Rückenfettdicke als Grundlage zur Anwendung in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden.  
Vet.-Med. Diss., Fachber. Veterinärmed. Freie Universität Berlin, Berlin
- SEAL, C.J., C.K. REYNOLDS (1993):  
Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants.  
*Nutr. Res. Rev.* 6, 185-208
- SENATOR, E.M., W.R. BUTLER, P.A. OLTENACU (1996):  
Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.* 62, 17-23
- SHE, P., G.L. LINDBERG, A.R. HIPPEN, D.C. BEITZ, 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
- SHRESTHA, H.K., T. NAKAO, T. HIGAKI, T. SUZUKI, M. AKITA (2004a):  
Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows.  
*Theriogenology.* 61(4), 637-649
- SHRESTHA, H.K., T. NAKAO, T. HIGAKI, T. SUZUKI, M. AKITA (2004b):  
Effects of abnormal ovarian cycles during pre-service period postpartum on subsequent reproductive performance of high-producing Holstein cows.  
*Theriogenology.* 61(7), 1559-1571
- SINHA, M.K., I. OPENTANOVA, J.P. OHANNESIAN, J.W. KOLACZYNSKI, M.L. HEIMAN, J. HALE, G.W. BECKER, R.R. BOWSHER, R.W. STEPHENS, J.F. CARO (1996):  
Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *Science.* 196, 79-81
- SMITH, T.R., 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

- SOLING, H.D., B. WILLMS, J. KLEINEKE, M. GEHLHOFF (1970):  
Regulation of gluconeogenesis in the guinea pig liver. *Eur. J. Biochem.* 16, 289-302
- SPARKS, J.D., C.E. SPARKS (1985):  
Apolipoprotein B and lipoprotein metabolism. *Adv. Lipid Res.* 21, 1-46
- SPICER, L.J., W.W. THATCHER, J.H. CLARK (1990):  
Insulin-like growth factor-I in dairy cows: Relationship among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behaviour. *J. Dairy Sci.* 73, 929-937
- SPICER, L.J., E. ALPIZAR, S.E. ECHTERNKAMP (1993):  
Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor I production in vivo. *J. Anim. Sci.* 71, 1232-1241
- SPICER, L.J., R.E. STEWART (1996):  
Interaction among basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin, and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine tecal cells: role of IGF-I receptors. *Biol. Reprod.* 54, 255-263
- SPRECHER, D.J., R.L. NEBEL, W.D. WHITTIER (1988):  
Predictive value of palpation per rectum vs. milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular and luteal cysts. *Theriogenology.* 30, 701-710
- STANGASSINGER, M., D. GIESECKE, S. TRISCHOW, H. MEYER (1983):  
Lipolysis in high yielding cows around parturition.  
*Proc. 5<sup>th</sup> Int. Conf. Prod. Diseases Farm Anim.*, Uppsala, Schweden 162-165
- STANGASSINGER, M., H.P. SALLMANN (2004):  
The molecular basis of lactation-metabolism in liver cells.  
*Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 13, 162-171
- STANGASSINGER, M. (1985):  
Characterization of the normal and fasting conditions in ruminants demonstrated by insulin sensitivity and metabolic glucose flow  
*Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk.* 54, 66-67
- STANGASSINGER, M. (1997):  
Zum Glucosestoffwechsel der Wiederkäuer unter Belastungszuständen.  
In: VOIGT, J., H. HAGEMEISTER. (Hrsg). *Schriftreihe des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN)*. 10. Internationale Vortragstagung-Verdauungsphysiologie und Stoffumsatz beim Wiederkäuer, pp. 38-49
- STANGASSINGER, M. (2006):  
Physiologische Grundlagen von Merkmalsantagonismen.  
Tagungsband. *21. Hülsenberger Gespräche 2006, Lübeck, 14. bis 16. Juni 2006 Physiologie, Leistung und Produktqualität*, pp. 48-60
- STAPLES, C.R., W.W. THATCHER, 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
- STAUFENBIEL, R., N. ROSSOW, U. JACOBI. (1987):  
Zur Milchproduktion aus Sicht des Energie- und Fettstoffwechsels.  
Bericht Humboldt Universität, Berlin, 07. Nov 1987, 26-34
- STAUFENBIEL, R., J. LANGHANS, J. BAUER, D. DARGEL, N. ROSSOW, G. LEUTHOLD (1989a):  
Untersuchungen zur Beurteilung der postpartalen Energiebilanz der Milchkuh.  
*Mh. Vet.-Med.* 44, 594-598
- STAUFENBIEL, R., L. LAURITZEN, B. STAUFENBIEL, N. ROSSOW (1989b):  
Beziehung zwischen Rückenfettdicke im postpartalen Zeitraum und dem Leistungsvermögen bei Jungkühen. *Mh. Vet.-Med.* 44, 836-840

- STAUFENBIEL, R., B. STAUFENBIEL, I. LACHMANN, H. LUKAS (1991):  
Fettstoffwechsel und Fruchtbarkeit bei der Milchkuh.  
*Prakt. Tierarzt.* 72, (colleg. vet. XXII) 18-25
- STAUFENBIEL, R., R. MEIER, K.-H. HACKBARTH, B. STAUFENBIEL,  
N. ROSSOW (1992a):  
Untersuchungen zum optimalen Fettansatz bei der Milchkuh.  
*Mh. Vet.-Med.* 47, 125 – 136
- STAUFENBIEL, R., U. RISCHK, B. SCHUMACHER, W. BECKER (1992b):  
Untersuchungen zum Glucose-Insulin-System der Milchkuh mittels Tagesprofilen und  
mit dem Glucosetoleranztest. *Mh. Vet.-Med.* 47, 231-243
- STAUFENBIEL, R. U. JOHANNSEN, H. DARGEL, N. ROSSOW (1992c):  
Experimentelle Untersuchungen zur Leberverfettung der Milchkuh bei  
Futterrestriktion. *Mh. Vet.-Med.* 47, 559-566
- STAUFENBIEL, R., U. RISCHK, B. SCHUMACHER, W. BECKER (1992d):  
Estimation of insulin and glucose regulation in the dairy cow using daily profiles,  
simple and modified glucose tolerance test.  
*Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 99, 69-75
- STAUFENBIEL, R., B. STAUFENBIEL, N. ROSSOW,  
F. WIEDEMANN (1993a):  
Energie und Fettstoffwechsel des Rindes - Vergleich der Aussage der  
Rückenfettdicke mit anderen Untersuchungsgrößen. *Mh. Vet.- Med.* 48, 167-174
- STAUFENBIEL, R., B. STAUFENBIEL, N. ROSSOW, H. KLUKAS (1993b):  
Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes - Beziehungen der Rückenfettdicke zur  
Milchleistung, Fruchtbarkeit und zu klinisch-chemischen Parametern.  
*Mh. Vet.-Med.* 48, 3-11
- STAUFENBIEL, R., U. SCHRÖDER (2004a):  
Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. Teil 1  
Methodische Grundlagen. *Veterinärspiegel.* 2, 149-155
- STAUFENBIEL, R., U. SCHRÖDER (2004b):  
Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. Teil 2  
Physiologische Grundlagen. *Veterinärspiegel.* 3, 227-230
- STAUFENBIEL, R. U. SCHRÖDER (2004c):  
Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. Teil 3  
Referenzwerte. *Veterinärspiegel.* 4, 264-266
- STAUFENBIEL, R. (1989):  
Untersuchung zur Beurteilung der postpartalen Energiebilanz der Milchkuh.  
*Mh. Vet.-Med.* 44, 594-598
- STAUFENBIEL, R. (1992):  
Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes - Untersuchungskonzept und Messung der  
Rückenfettdicke. *Mh. Vet.-Med.* 47, 467-474
- 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. (1997):  
Konditionsbeurteilung von Milchkühen mit Hilfe der sonographischen  
Rückenfettdickenmessung.  
*Prakt. Tierarzt.* 78, (colleg. vet. XXVII) 87-92

- STAUFENBIEL, R. (1999):  
Die Stoffwechselüberwachung der Milchkuhherde als Mittel zur Stabilisierung von Leistung und Gesundheit. In: PIEPER, B., S. POPPE. (Hrsg.):  
*Tagungsbericht: 3. Symposium- Fragen der Fütterung und des Managements von Hochleistungskühen*, pp. 18-35
- STÖBER, M., G. DIRKSEN (1981):  
Das Lipomobilisierungssyndrom (Verfettungssyndrom) der Milchkuh.  
Prakt. Tierarzt. 63, (colleg. vet. XII) 79-88
- STRANG, B.D., S.J. BERTICS, R.R. GRUMMER, L.E. ARMENTANO (1989):  
Effects of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81, 728-739
- STRYER, L. (1981):  
Biochemistry. 2. Auflage, W.H. Freeman and Company, New York
- STUDER, V.R., R.R. GRUMMER, S.J. BERTICS, C.K. REYNOLDS (1993):  
Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 2931-2939
- SÜDEKUM, K.-H. (1999):  
Wiederkäuergerechte Ernährung der Hochleistungskuh.  
Tagungsband. 26. *Viehwirtschaftliche Fachtagung, Gumpenstein*, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Gumpenstein, pp. 1-8
- TAILOR, H., J. NIELSON, D.B. KEECH (1969):  
Substrate activation of pyruvate carboxylase by pyruvate.  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 37(5), 723-728
- TAILOR, P.H., J.C. WALLACE, D.B. KEECH (1971):  
Gluconeogenic enzymes in sheep. *Biochem. Biophys. Acta.* 237(2), 179-191
- TAMMINGA, S. (2006):  
The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 227-239
- TAYLOR, V.J., Z.CHENG, P.G.A. PUSHPAKUMARA, D.E. BEEVER, D.C. WHATES (2004):  
Relationship between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Vet. Rec.* 155, 583-588
- TEUFEL, E. (1999):  
Verlaufsuntersuchungen zu Serum-Amyloid A, L-Carnitin sowie ausgewählten Stoffwechselfparametern bei hochleistenden Milchkühen im peripartalen Zeitraum.  
Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- THILSTED, S.H. (1985):  
Plasma glucose concentration and glucose turnover rate in the dairy cows in late pregnancy and early lactation. *Z.Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk.* 53, 1-9
- TILGHMAN, S.M., R.W. HANSON, L. RESHET, M.F. HOPGOOD, F.J. BALLARD (1974):  
Rapid loss of translatable messenger RNA of phosphoenolpyruvate carboxykinase during glucose repression in liver. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 71(4), 1304-1308
- TITUS, E., G. A. AHEARN (1992):  
Vertebrate gastrointestinal fermentation: transport mechanisms for volatile fatty acids. *Am. J. Physiol.* 262, R547-R553
- TRAYHURN, P., J.S. DUNCAN, N. HOGGARD, D.V. RAYNER (1989):  
Regulation of leptin production: a dominant role for the sympathetic nervous system? *Proc. Nutr. Soc.* 57, 413-419

- ULBRICH, M., M. HOFFMANN, W. DROCHNER (2004):  
 Stoffwechselstörungen durch Fütterungsregimes mit abweichender Bedarfsdeckung.  
 In: *Fütterung und Tiergesundheit*.  
 Eugen Ullmer-Verlag, Stuttgart, pp. 175-193
- UNDERWOOD, J.P. (2003):  
 Protein nutrition of dairy cows during the transition period.  
 PhD. Diss. University of Illinois, Urbana, IL
- UNGER, R.H. (1972):  
 Insulin:glucagon ratio. *Isr. J. Med. Sci.* 8, 252-257
- VANDEHAAR, M.J., G. YOUSIF, B.K. SHARMA, T.H. HERDT, R.S. EMERY,  
 M.S. ALLEN, 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 DEN TOP, A.M., T. WENSING, M.J.H. GEELEN, G.H. WENTINK,  
 A.T. VAN'T KLOOSTER, A.C. BEYNEN (1995):  
 Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during  
 postpartum development of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78, 2208-2220
- VAN DEN TOP, A.M., M.J.H. GEELEN, T. WENSING, G.H. WENTINK,  
 A.T. VAN'T KLOOSTER, 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 DER WELJEDEN, G.C., M. TAVERNE (1999):  
 Trächtigkeitsuntersuchung.  
 In: GRUNERT, E., A.D. DE KRUIF (Hrsg.): *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*.  
 3. Auflage, Paul Parey-Verlag, Berlin, pp. 78-91
- VAN SOEST, P.J. (1996):  
 Intermediary metabolism. In: *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. Auflage,  
 Cornell Univ. Press, pp. 312-324
- VAN WINDEN, S.C.L., R. JORRITSMA, K.E. MÜLLER,  
 J.P.T.M. NOORDHUIZEN (2003):  
 Feed intake, milk yield and metabolic parameters prior to left displaced abomasum in  
 dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 1465-1471
- VAZQUEZ-AÑÓN, M., S. BERTICS, M. LUCK, R.R. GRUMMER (1994):  
 Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows.  
*J. Dairy Sci.* 77, 1521-1528
- VEENHUIZEN, J.J., J.K. DRACKLEY, M.J. RICHARD, T.P. SANDERSON,  
 L.D. MILLER, J.W. YOUNG (1991):  
 Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of  
 experimental fatty liver and ketosis in cows. *J. Dairy Sci.* 74, 4238-4253
- VEGA, J.R., C.A. GIBSON, T.C. SKAAR, D.L. HADSELL,  
 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
- VELEZ, J.C., S.S. DONKIN (2000):  
 Partial feed restriction induces pyruvate carboxylase mRNA but not  
 phosphoenolpyruvate carboxykinase mRNA in liver of lactating dairy cattles.  
*J. Anim. Sci.* 78(Suppl.1), 612(Abstr.)

- VELEZ, J.C., S.S. DONKIN (2004):  
Bovine somatotropin increases hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase mRNA in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **87**, 1325-1335
- VELEZ, J.C., S.S. DONKIN (2005):  
Feed restriction induces pyruvate carboxylase but not phosphoenolpyruvate carboxykinase in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **88**, 2938-2948
- VERNON, R.G., R.G. P. DENIS, A. SORENSON (2001):  
Signal of adiposity. *Dom. Anim. Endocrinol.* **21**, 197-214
- VERNON, R.G., K.L. HOUSEKNECHT (2000):  
Adipose tissue: beyond an energy reserve.  
In: CRONJE, P.B. (Hrsg.): *Ruminant Physiology, Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. CAB, Wallingford, UK, pp. 171-186
- VERNON, R.G. (1981):  
Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals.  
In: CHRISTIE, W.W. (Hrsg.): *Lipid metabolism in ruminant animals*. Pergamon Press, Oxford, UK, pp. 279-362
- VERNON, R.G. (2002):  
Nutrient partitioning, lipid metabolism and relevant imbalances.  
*Proc. 22<sup>nd</sup> World Buiatrics Congress*, Hannover, Germany. Keynote lectures. 18-23
- 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
- VILLA-GODOY, A., T.L. HUGHES, R.S. EMERY, L.T. CHAPIN, R.L. FOGWELL (1988):  
Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **71**, 1063-1072
- VOIGT, K. (1996):  
Endokrinologische Systeme.  
In: KLINKE, R., S. SILBERNAGEL (Hrsg.): *Lehrbuch der Physiologie*. 2. Auflage, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, pp. 435-484
- VON BENTEN, K. (1972):  
Frühdagnose subklinischer Stoffwechselstörungen und Prophylaxe puerperaler und postpuerperaler Erkrankungen beim Rind.  
Vet.-Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- VON ENGELHARDT, W., G. BREVES. (2000):  
*Physiologie der Haustiere*. Enke im Hippokrates-Verlag GmbH, Stuttgart
- WALLACE, J.C., S. JITRAPAKDEE, A. CHAMPAN-SMITH. (1998):  
Pyruvate carboxylase. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **30**, 1-5
- WALTNER, S.S., J.P. McNAMARA, J.K. HILLERS (1993):  
Relationships of body condition score to milk production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **76**, 3410-3419
- WATFORD, M., Y. HOD, Y.B. CHIAO, M.F. UTTER, R.W. HANSON (1981):  
The unique role of the kidney in gluconeogenesis in the chicken. The significance of a cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J. Biol. Chem.* **356**, 10023-10027
- WATHES, D.C., Z. CHENG, N. BOURNE, V.J. TAYLOR, M.P. COFFEY, S. BROTHERSTONE (2007):  
Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk production and body condition score in the periparturient period. *Dom. Anim. Endocrinol.* **33**, 203-225

- WEEKES, T. E. C. (1991):  
Hormonal control of glucose metabolism.  
In: T. TSUDA, Y. SASAKI, R. KAWASHIMA (Hrsg.): *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*.  
Academic Press New York, Boston, London, pp. 183-200
- WEHREND, A., H. BOSTEDT (2005):  
Delayed ovulation in dairy cows: Influence of actual energy supply and milk yield.  
*Schweiz. Arch. Tierheilk.* 147, 83-84
- WEINBERG, M.B., M.F. UTTER (1979):  
Effect of thyroid hormone on the turnover of rat liver pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 254, 9492-9499
- WELDON, S.L., A. RANDO, A.S. MATATHIAS, Y. HOD, P.A. KALONICK, S. SAVON, J.S. COOK, R.W. HANSON (1990):  
Mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase from the chicken.  
*J. Biol. Chem.* 265, 7308-7317
- WENSING, T., T. KRUIP, M.J.H. GEELEN, G.H. WENTINK, A.M. VAN DEN TOP (1997):  
Postpartum fatty liver in high-producing dairy cows in practice and in animal studies. The connection with health, production and reproduction problems.  
*Comp. Heamatol. Int.* 7, 167-171
- WESTWOOD, C.T., I.J. LEAN, J.K. GARVIN, P.C. WYNN (2000):  
Effects of genetic merit and varying dietary protein degradability on lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 2926-2940
- WESTWOOD, C.T., I.J. LEAN, J.K. GARVIN (2002):  
Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: A multivariate description.  
*J. Dairy Sci.* 85, 3225-3237
- WIEDEMANN, F. (1989):  
Untersuchungen zur Rückenfettdicke und dem über das Gesamtkörperwasser bestimmten Körperfettgehalt bei weiblichen Jungrindern und Jungkühen  
Vet.-Med. Diss., Humboldt- Universität Berlin, Berlin
- WILDMAN, E.E., G.M. JONES, P.E. WAGNER, R.L. BOMAN, H.F. TROUTT, T.N. LESCH (1982):  
A dairy cow body scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65, 485-501
- WILLIAMS, E.L., S.M. RODRIGUEZ, D.C. BEITZ, 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
- WILM, Y.F. (1990):  
Hormone, Metaboliten und experimentelle Stoffwechselbelastung bei jungen und bei laktierenden Schwarzbunten Rindern und ihre Beziehung zur Milchleistung.  
Vet.-Med. Diss., Tierärztl. Fak. Ludwig-Maximilians-Universität München, München
- WIMHURST, J.M., K.L. MANCHESTER (1970):  
A comparison of the effects of diabetes induced with either alloxan or streptozotocin and of starvation on the activities in rat liver of the key enzymes of gluconeogenesis. *Biochem. J.* 120(1), 95-103
- WINDIG, J.J., B. BEERDA, R.F. VEERKAMP (2008):  
Relationship between milk progesterone profiles and genetic merit for milk production, milking frequency, and feeding regime in dairy cattle.  
*J. Dairy Sci.* 91, 2874-2884

- YOUNG, J.W., S.P. SCHMIDT, E.S. AKOWUAH, G.S. HESS,  
A.D. MCGILLIARD (1974):  
Effects of phlorizin on glucose kinetics in the bovine. *J. Dairy Sci.* 57, 689-694
- ZEHRUN, M. (2002):  
Untersuchungen zur Ätiologie der zystischen Ovardegeneration bei  
Hochleistungskühen einer Milchviehherde in Sachsen-Anhalt.  
Vet.-Med. Diss., Fachber. Veterinärmed. Freie Universität Berlin, Berlin
- ZHANG, Y., R. PROENCA, M. MAFFEI, M. BARONE, L. LEOPOLD,  
J.M. FRIEDMAN (1994):  
Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.  
*Nature.* 372, 425-432
- ZHANG, J., W.L. XIA, F. AHMAD (1995):  
Regulation of pyruvate carboxylase in 3T3-L1 cells. *Biochem. J.* 306, 205-210

## 9 Anhang

**Tab 1:** Leberfettgehalt (gesamte Lipide) am 1., 10., 21. Tag p.p., Mittelwert und resultierende Gruppenzuordnung der Probanden

Nr.	Tier- Nr.	Gruppenzuordnung		Leberfettgehalt [%] <sup>a</sup>			
				Tage p.p.			Mittelwert <sup>c</sup>
		Hoher LFG <sup>b</sup>	Niedriger LFG	1	10	21	
1	53050	x		17,8	24,4	21,2	21,1
2	46110	x		11,7	26,3	20,6	19,5
3	31828	x		10,5	22,3	24,7	19,2
4	31774	x		13,7	19,5	21,0	18,1
5	31744	x		10,4	22,4	16,8	16,5
6	53010	x		8,8	20,3	20,0	16,4
7	31661	x		10,7	19,3	18,8	16,3
8	31751	x		9,9	23,7	14,7	16,1
9	3614	x		8,5	16,8	22,3	15,9
10	24430	x		10,7	17,9	17,1	15,2
11	53067		x	8,2	8,6	9,1	8,6
12	53053		x	5,1	9,2	11,3	8,5
13	53058		x	6,1	9,5	9,7	8,4
14	3662		x	8,3	8,7	7,8	8,3
15	46089		x	8,0	9,7	6,8	8,2
16	53021		x	8,8	8,6	6,6	8,0
17	53083		x	5,8	7,1	10,6	7,8
18	46061		x	7,5	8,0	6,0	7,2
19	53065		x	6,9	4,7	7,8	6,5
20	46132		x	5,2	7,6	3,6	5,5

<sup>a</sup>bezogen auf die Originalsubstanz

<sup>b</sup>Leberfettgehalt

<sup>c</sup>arithmetisches Mittel aus den Werten der Zeitpunkte 1., 10., 21. Tag p.p.

**Tab. 2: Progesteronkonzentrationen im Endgemelk**

Nr.	Tier- Nr.	LFG <sup>b</sup>	Progesteronkonzentration [ng/ml]					
			Untersuchungszeitpunkt [Tag p.p.]					
			21	28	35	42	49	56
1	24430	hoch	1,50	0,78	4,72	<b>11,07<sup>a</sup></b>	24,80	21,07
2	3614	hoch	0,69	2,09	2,33	<b>11,01<sup>a</sup></b>	15,95	0,87
3	31751	hoch	1,31	<b>8,80<sup>a</sup></b>	9,76	6,60	1,75	20,17
4	31661	hoch	0,63	2,12	4,65	<b>9,88<sup>a</sup></b>	26,10	29,09
5	53010	hoch	0,96	0,82	1,09	1,86	<b>9,64<sup>a</sup></b>	11,27
6	31744	hoch	0,84	0,95	<b>7,94<sup>a</sup></b>	8,32	17,42	2,91
7	31774	hoch	0,50	2,17	<b>5,53<sup>a</sup></b>	5,97	1,73	1,00
8	31828	hoch	1,83	2,25	2,29	2,11	2,35	<b>9,36<sup>a</sup></b>
9	46110	hoch	1,08	0,72	<0,5	<0,5	<b>12,83<sup>a</sup></b>	1,77
10	53050	hoch	0,50	1,59	<b>18,68<sup>a</sup></b>	24,99	26,08	25,57
11	46132	niedrig	<b>6,70<sup>a</sup></b>	12,96	1,71	12,63	30,42	3,35
12	53083	niedrig	4,48	<b>19,66<sup>a</sup></b>	1,82	8,19	30,32	5,20
13	53021	niedrig	1,70	<b>13,62<sup>a</sup></b>	11,36	0,77	2,91	19,03
14	53065	niedrig	<b>5,85<sup>a</sup></b>	19,23	16,85	26,00	15,88	0,75
15	46089	niedrig	<b>17,51<sup>a</sup></b>	23,22	20,21	15,36	3,19	19,36
16	3662	niedrig	0,50	0,57	1,62	1,96	<b>9,85<sup>a</sup></b>	11,22
17	53058	niedrig	<b>5,89<sup>a</sup></b>	14,64	25,30	25,70	14,94	15,20
18	53053	niedrig	<b>12,87<sup>a</sup></b>	15,44	10,18	17,97	27,03	2,79
19	46061	niedrig	0,61	0,64	0,63	1,51	4,21	<b>11,83<sup>a</sup></b>
20	53067	niedrig	2,29	2,11	2,50	2,24	<b>9,47<sup>a</sup></b>	1,37

<sup>a</sup>Progesteronkonzentration erstmals >5,0 ng/ml<sup>b</sup>Leberfettgehalt

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. habil. W. Kanitz vom Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf für die Überlassung des Themas, die exzellente fachliche Unterstützung bei der Anfertigung und Korrektur der Arbeit sowie die jederzeit offene und freundliche Diskussion bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. habil. E. Mohr für seine Bereitschaft, die Arbeit an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock zu vertreten.

Bei Herrn Prof. Dr. habil. M. Wähner von der Hochschule Anhalt (FH) in Bernburg möchte ich mich sehr herzlich für die immer währende Motivation vor und während des Promotionsstudiums in Rostock bedanken.

Herrn PD. Dr. habil. H. M. Hammon vom Forschungsbereich Ernährungsphysiologie des FBN in Dummerstorf danke ich sehr herzlich für seine große Hilfsbereitschaft und die konstruktive Unterstützung, insbesondere bei der Interpretation der Statistik.

Bei Herrn Dr. A. Tuchscherer sowie Herrn Dr. G. Nürnberg vom Forschungsbereich Genetik und Biometrie des FBN in Dummerstorf bedanke ich mich für die große Hilfe bei den statistischen Analysen des Datenmaterials.

Für die ausgezeichnete Laborarbeit bedanke ich mich bei Frau G. Andert vom Zentrum für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden, Frau S. Rodewald vom Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie und Frau C. Reiko vom Forschungsbereich Ernährungsphysiologie des FBN in Dummerstorf sowie bei Frau M. Waberowski von der Klinik für Klautiere des Fachbereiches Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin.

Bei dem gesamten Team des Dezernats Milchviehhaltung und -zucht des ZTT in Iden, insbesondere jedoch bei Frau L. Helm, Frau E. Riemann und Frau G. Andert sowie bei der Tierärztin A. Genzel bedanke ich mich sehr herzlich für die hervorragende Teamarbeit bei der praktischen Versuchsdurchführung in Iden und das kollegiale Arbeitsklima.

Bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Klinische Fortpflanzungsbiologie bedanke ich mich für die kollegiale Zusammenarbeit und die tiefgreifenden Diskussionen bei den täglichen „Arbeitsbesprechungen“.

Meinem Mit-Doktoranden, A. Vernunft, danke ich für die gemeinsame Lösung so manchen Rätsels, die konstruktive Diskussion und das tolle Arbeitsklima.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern für ihre immer wehrende moralische und finanzielle Unterstützung, ohne die ich diesen Weg nicht hätte gehen können.

Steffi danke ich für die riesige Unterstützung und das Verständnis während dieser Zeit und für alles, was uns verbindet.

Der letzte Dank geht an meine beste Motivation, Anne.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Ich erkläre, dass ich die hier vorgelegte Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel wurden nicht benutzt. Die den Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen habe ich als solche kenntlich gemacht.

Osterburg, 20. Oktober 2009

Dipl.-Ing. agr. (FH) Guido Stürmer

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Guido Stürmer  
 Geburtsdatum: 8. August 1974  
 Geburtsort: Osterburg

### Beruflicher Werdegang

seit 07/2008 Volontariat im Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des  
 Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher  
 Nutztiere (FBN) in Dummerstorf

06/2006 - 06/2008 wissenschaftlicher Mitarbeiter und Doktorand im  
 Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des  
 Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher  
 Nutztiere (FBN) in Dummerstorf

06/2005 - 05/2006 externer Doktorand im Forschungsbereich  
 Fortpflanzungsbiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie  
 landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf, dabei  
 Betreuung eines Tierexperiments mit Hochleistungskühen im  
 Zentrum für Tierhaltung und Technik (ZTT) in Iden

05/2004 - 05/2005 Mitarbeiter in der GbR Stürmer-Ecke in Rossau,  
 Milchviehwirtschaft mit Marktfrucht- und Futterbau

03/1996 - 08/1996 Mitarbeiter in der GbR Stürmer-Ecke in Rossau,  
 Milchviehwirtschaft mit Marktfrucht- und Futterbau

### Studium

seit 04/2008 Promotionsstudium an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen  
 Fakultät der Universität Rostock; Anfertigung der Dissertation mit  
 dem Titel „Untersuchung von Zusammenhängen zwischen  
 peripartalen Stoffwechselbelastungen und regulatorischen  
 Aspekten des Glucosestoffwechsels sowie Milchleistung und  
 Ovarfunktion bei Hochleistungskühen“

04/2004 Abschluss: Dipl.-Ing. agr.  
 Förderpreis der VEBIRO GmbH Könnern für den besten  
 Hochschulabschluss des Jahrgangs 2003/04

2000 - 2004 Hauptstudium und Diplomarbeit im Studiengang Landwirtschaft/  
 Vertiefungsrichtung Agrarmanagement an der Hochschule Anhalt  
 (FH) in Bernburg

2000 Abschluss: Vordiplom

1999 - 2000 2. - 4. Semester Grundstudium im Studiengang Landwirtschaft  
 an der Hochschule Anhalt (FH) in Bernburg

1998 - 1999 Beurlaubung wegen Ableistung des Grundwehrdienstes

1997 - 1998 1. Semester Grundstudium im Studiengang Landwirtschaft an  
 der Hochschule Anhalt (FH) in Bernburg

**Berufsausbildung**

02/1996 Abschluss: „Gesellenbrief“ als Elektroinstallateur  
08/1992 - 02/1996 Berufsausbildung und Gesellenprüfung als Elektroinstallateur bei Elektro Böhler in Grävenitz

**Wehrdienst**

1998 - 1999 Grundwehrdienst im 4./ Panzergrenadierlehrbatallion 92 in Munster

**Schulbildung**

1997 Abschluss: Fachhochschulreife  
1996 - 1997 Fachoberschule Technik in Magdeburg  
1992 - 1996 Berufsbildende Schulen I „Elektrotechnik“ in Stendal  
1991 - 1992 Gymnasium in Osterburg  
1991 Abschluss: Erweiterter Realschulabschluss  
1981 - 1991 Polytechnische Oberschule in Flessau

**Zusatzqualifikation**

seit 2004 Ausbildungsbefähigung