

Laktation, Milchbildung, Nährstoffflüsse und Regulation

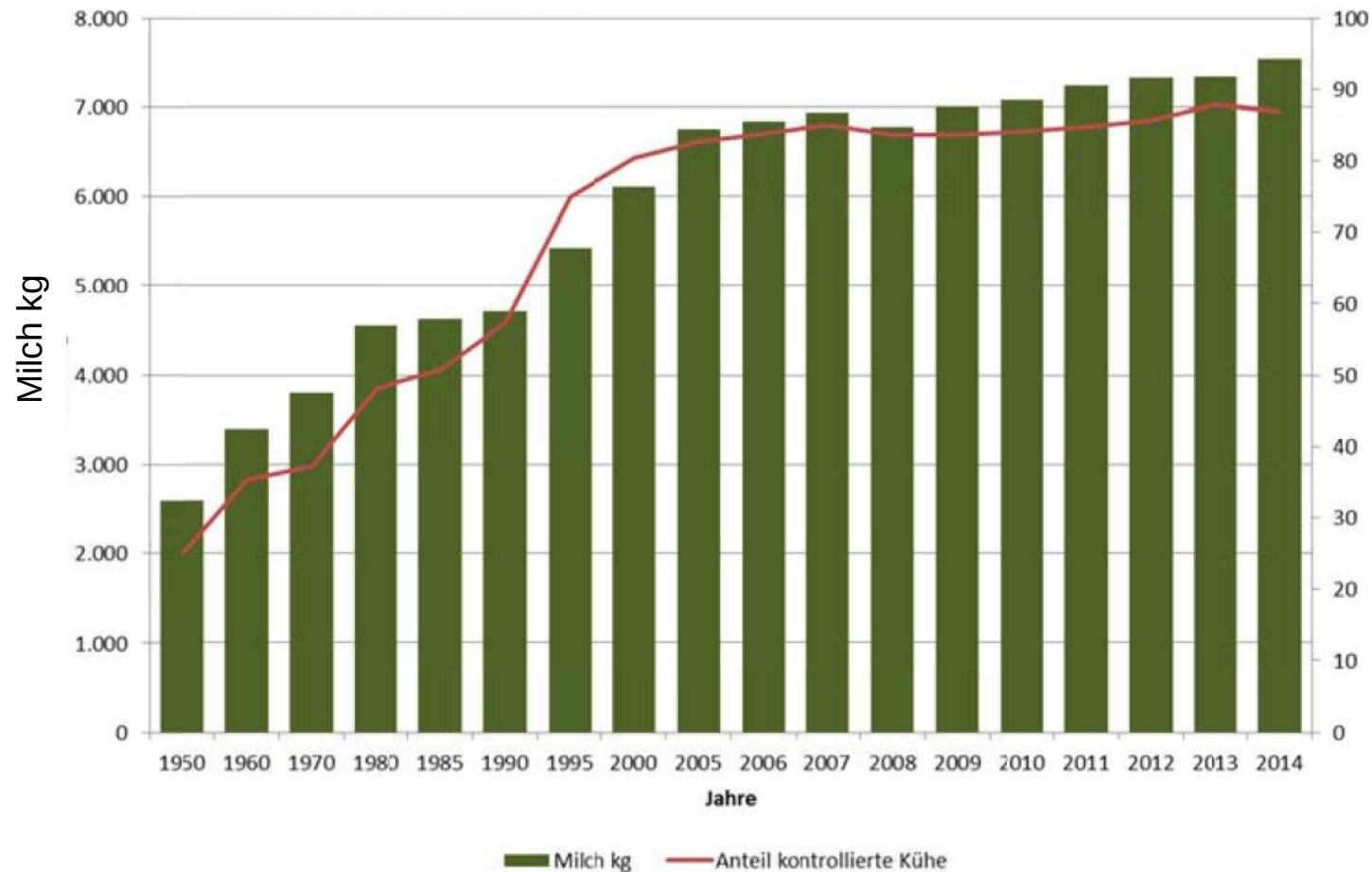
Gerhard Breves, Kristin Elfers, Bernd Schröder
Physiologisches Institut



Gliederung

1. Einleitung
2. Zusammensetzung der Milch
3. Durchblutung der Milchdrüse
4. Komplexität der Milchbildung und -sekretion
 - Fett
 - Proteine
 - Lactose
 - Elektrolyte
5. Regulationsmechanismen
 - Allgemein
 - Lactogenese
 - Galactopoese

Anzahl aller monatlich kontrollierten Kühe (%) und deren durchschnittliche Milchleistung in Deutschland seit 1950



Anteil kontrollierter Kühe an allen Milchkühen in %

Mittlere Konzentrationen wichtiger Milchbestandteile in der Milch verschiedener Wiederkäuer (Angaben in g·l⁻¹)

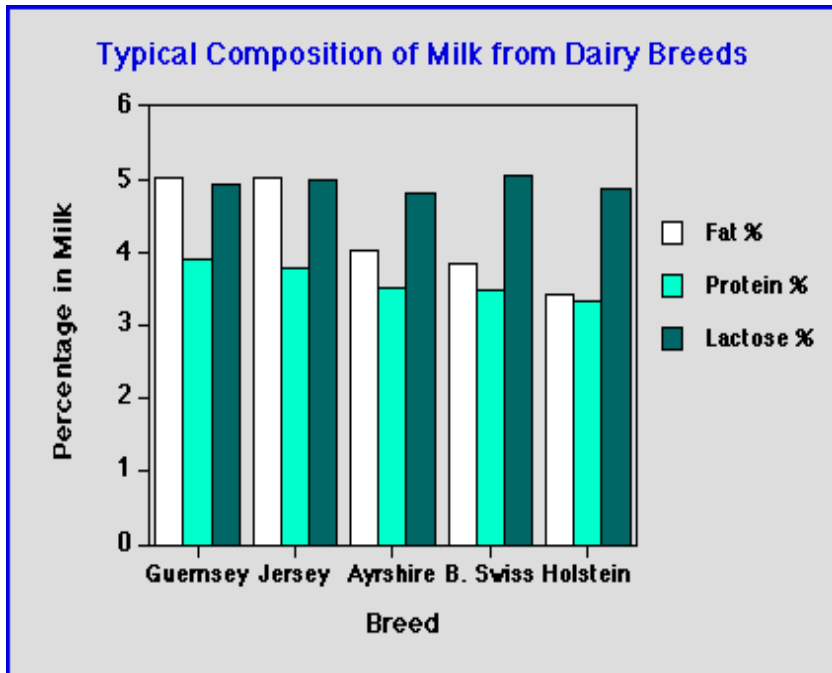
Tierart	Fett	Caseine	Milch-serum-proteine	Lactose	Calcium	Phosphor
Kuh	37	28	6	48	1,2	0,9
Ziege	45	25	4	41	1,2	1,0
Schaf	74	46	9	48	2,3	1,3

Engelhardt, Breves, Diener, Gäbel: Physiologie der Haustiere, 2015, 5. Auflage, Enke Verlag

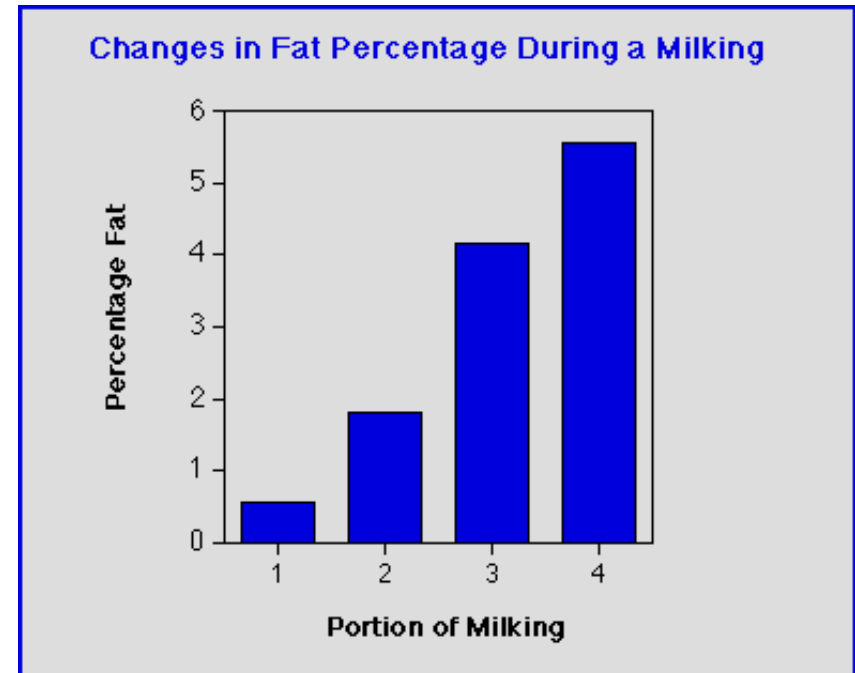
Schätzwerte zu den Syntheseleistungen einer Milchkuh mit einer Laktationsleistung von 10.000 kg:

Fett 370 kg
Casein 280 kg
Lactose 480 kg

Zusammensetzung – inter- und intraspezifische Besonderheiten



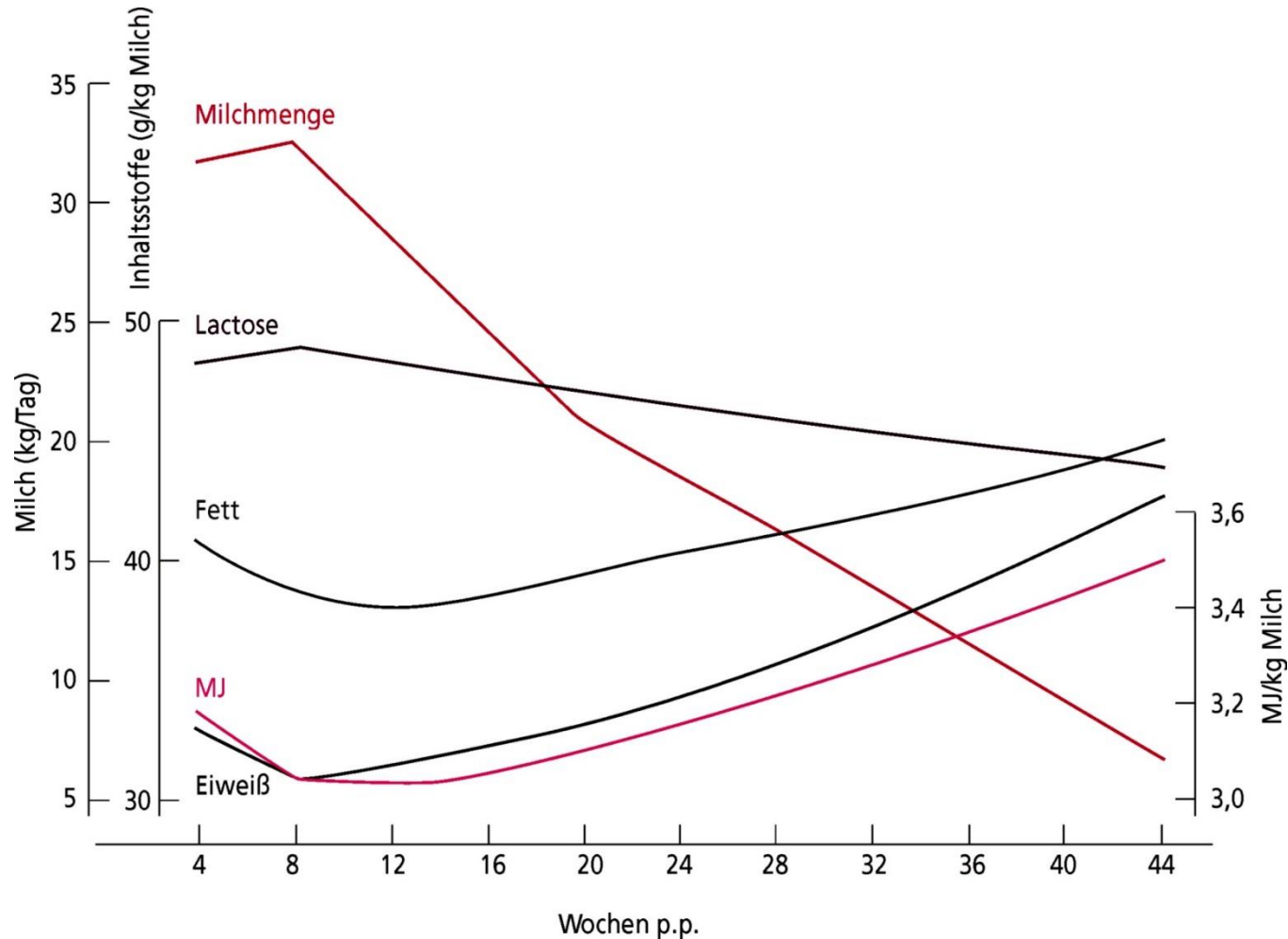
Die Zusammensetzung der Milch variiert innerhalb einer Spezies, wobei der Lactosegehalt relativ konstant ist.



Änderung der Zusammensetzung der Milch während des Melkprozesses (Fettgehalt steigt während des Milchentzugs und ist im Nachgemelk am höchsten)

http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/Milkcompsynth/milkcomp_breed.html

Milchleistung und -zusammensetzung als Funktion der Zeit



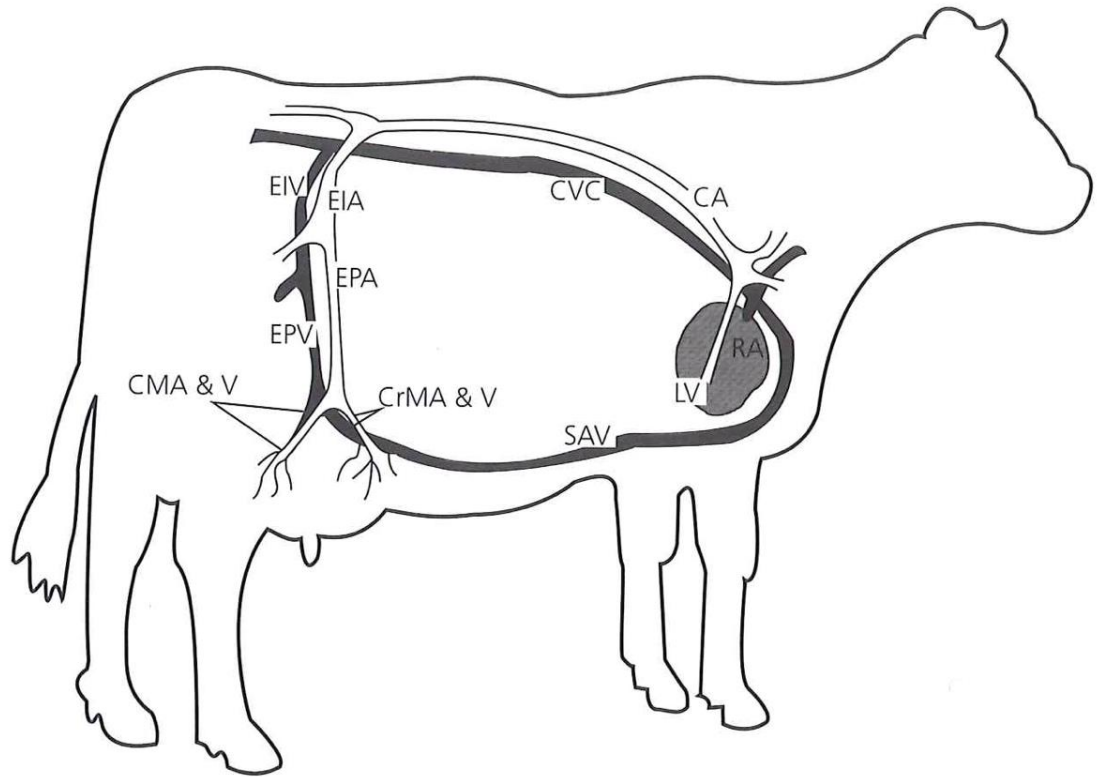
Engelhardt, Breves, Physiologie der Haustiere der Haustiere, 2005, 2. Auflage, Enke Verlag

Gliederung

1. Einleitung
2. Zusammensetzung der Milch
3. Durchblutung der Milchdrüse
4. Komplexität der Milchbildung und -sekretion
 - Fett
 - Proteine
 - Lactose
 - Elektrolyte
5. Regulationsmechanismen
 - Allgemein
 - Lactogenese
 - Galactopoese

Blutfluss

Figure 54.3 Blood circulation to and from the udder. RA, right atrium; LV, left ventricle; CA, caudal artery; CVC, caudal vena cava; EIV, external iliac vein; EIA, external iliac artery, EPA, external pudic artery; EPV, external pudic vein; CMA&V, caudal mammary artery and vein; CrMA&V, cranial mammary artery and vein; SAV, subcutaneous abdominal vein. Drawn by W.L. Keller. From Reece, W.O. (2004) *Dukes' Physiology of Domestic Animals*, 12th edn. Cornell University Press, Ithaca, NY. Reproduced with permission from Cornell University Press.



Reece, Erickson, Goff & Uemura, *Dukes' Physiology of Domestic Animals*, 13th edition, Wiley

Blutfluss

Milch pro Tag:

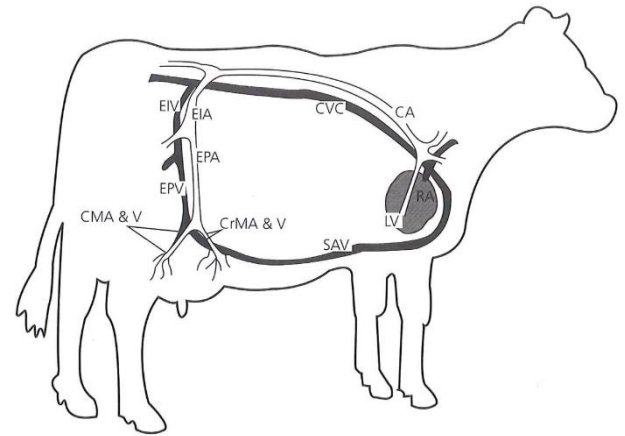
7.500 kg in 305 Tagen: 24,6 kg pro Tag

HZV (in Ruhe) pro Tag:

HMV von 50 l: 72.000 pro Tag

Blutfluss durchs Euter:

12.250 l pro Tag, das entspricht
17% des HZV



Erhöhung des HZV bei Hochleistungstieren
um das 2-3-fache!

Gliederung

1. Einleitung
2. Zusammensetzung der Milch
3. Durchblutung der Milchdrüse
4. Komplexität der Milchbildung und -sekretion
 - Fett
 - Proteine
 - Lactose
 - Elektrolyte
5. Regulationsmechanismen
 - Allgemein
 - Lactogenese
 - Galactopoese

Milchsekretion – Transportwege

I: Exocytose

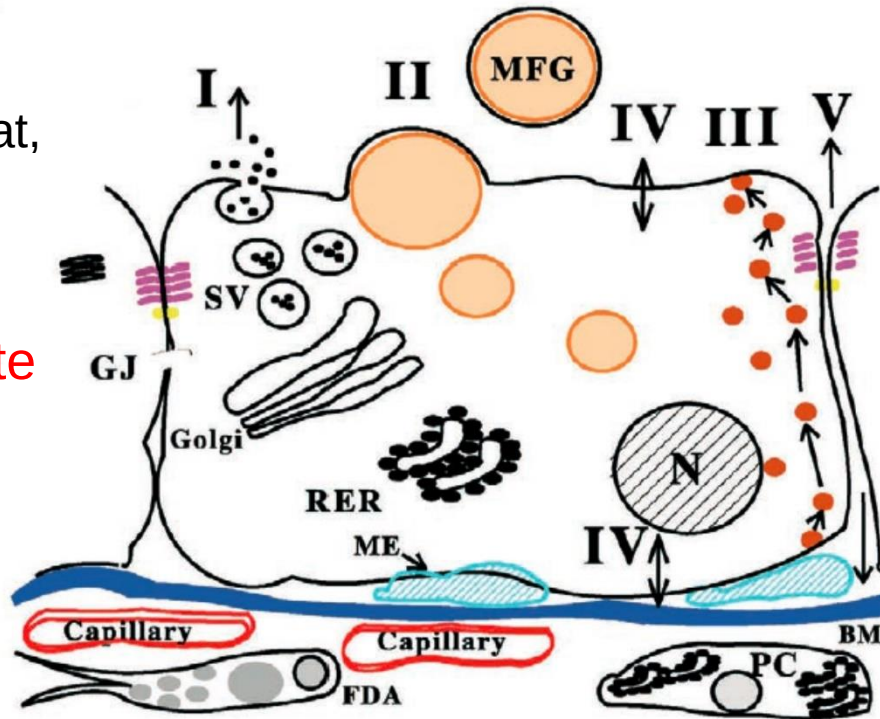
Protein, Wasser, Laktose, Phosphat, Calcium, Citrat

II: MilCHFett-Route

Triacylglyceride, Phospholipide

III: Transcytose

Proteine, IgA, IgG Transferrin



IV: Membran-Route

Natrium, Kalium, Chlorid: apical und basolateral

Calcium, Phosphat, Iod, Glucose (GLUT1, basolateral und GA), AS

V: parazelluläre Route

Trächtigkeit, Mastitis, Involution

Hauptinhaltsstoffe – Milchfett

Milchfett besteht hauptsächlich aus Triacylglyceriden (~ 98%), die innerhalb der Milchdrüse aus Fettsäuren synthetisiert werden:

Molar (%)	Kuh	Schaf	Ziege
Kurzkettig			
C4:0	11	8	8
C6:0	5	5	5
C8:0	1	4	4
Mittelkettig			
C10:0	3	6	13
C12:0	3	5	7
C14:0	10	10	12
Langkettig			
C16:0	23	22	24
C18:0	10	10	12
C18:1	29	22	17
C18:2	2	4	3
C18:3	<1	<1	<1

C16:0 Palmitinsäure

C18:0 Stearinsäure

C18:1 Ölsäure

C18:2 Linolsäure

C18:3 Linolensäure

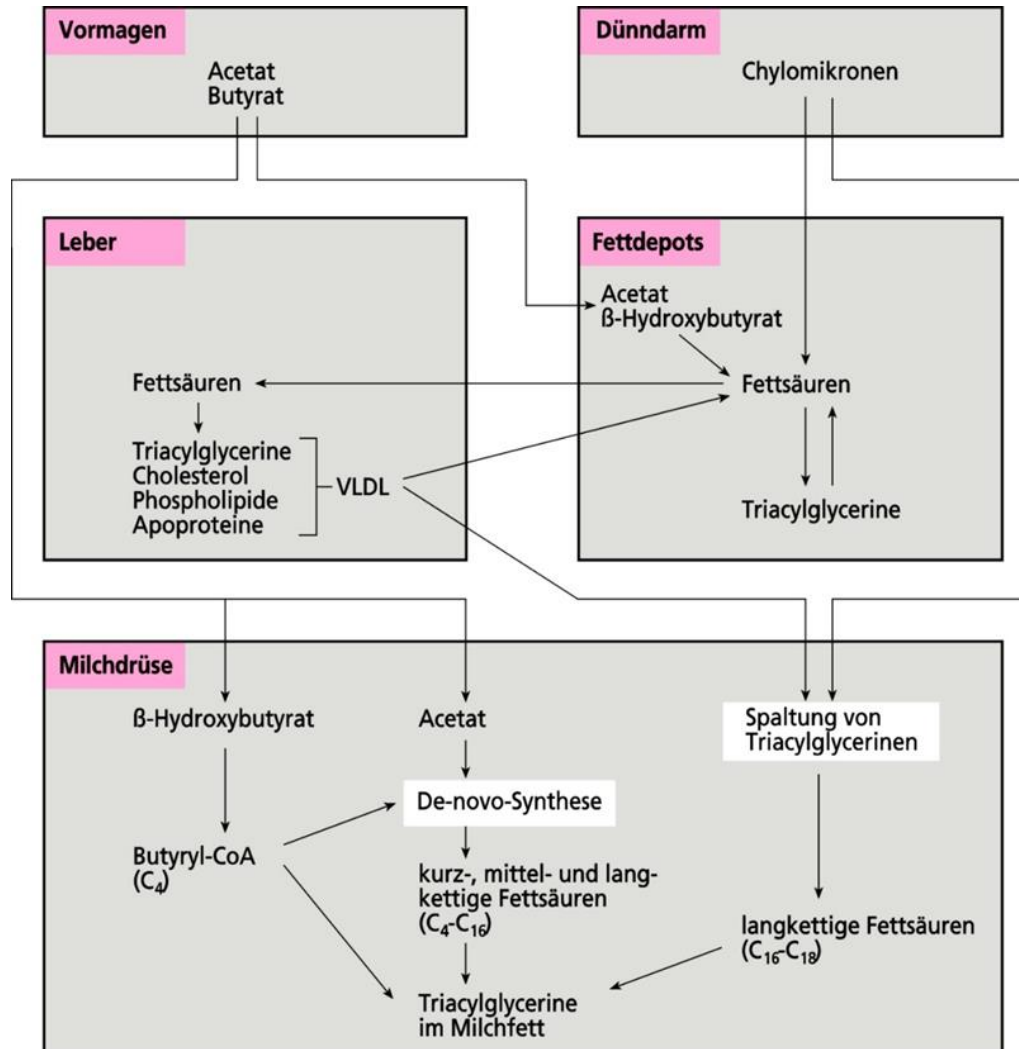
mod. nach: http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/Milkcompsynth/milksynth_fatcomp.html

Hauptinhaltsstoffe – Milchfett

Fettsäuresynthese

1. **De-novo-Synthese aus Acetat und β -Hydroxybutyrat** in den Epithelzellen (v.a. kurzkettige)
2. **Fettsäuren aus VLDL und Chylomikronen** (aus Leber & Darm)

Hauptinhaltsstoffe – Milchfett



Fettkügelchenbildung am ER mit Membran aus Triacyglyceriden und Proteinen

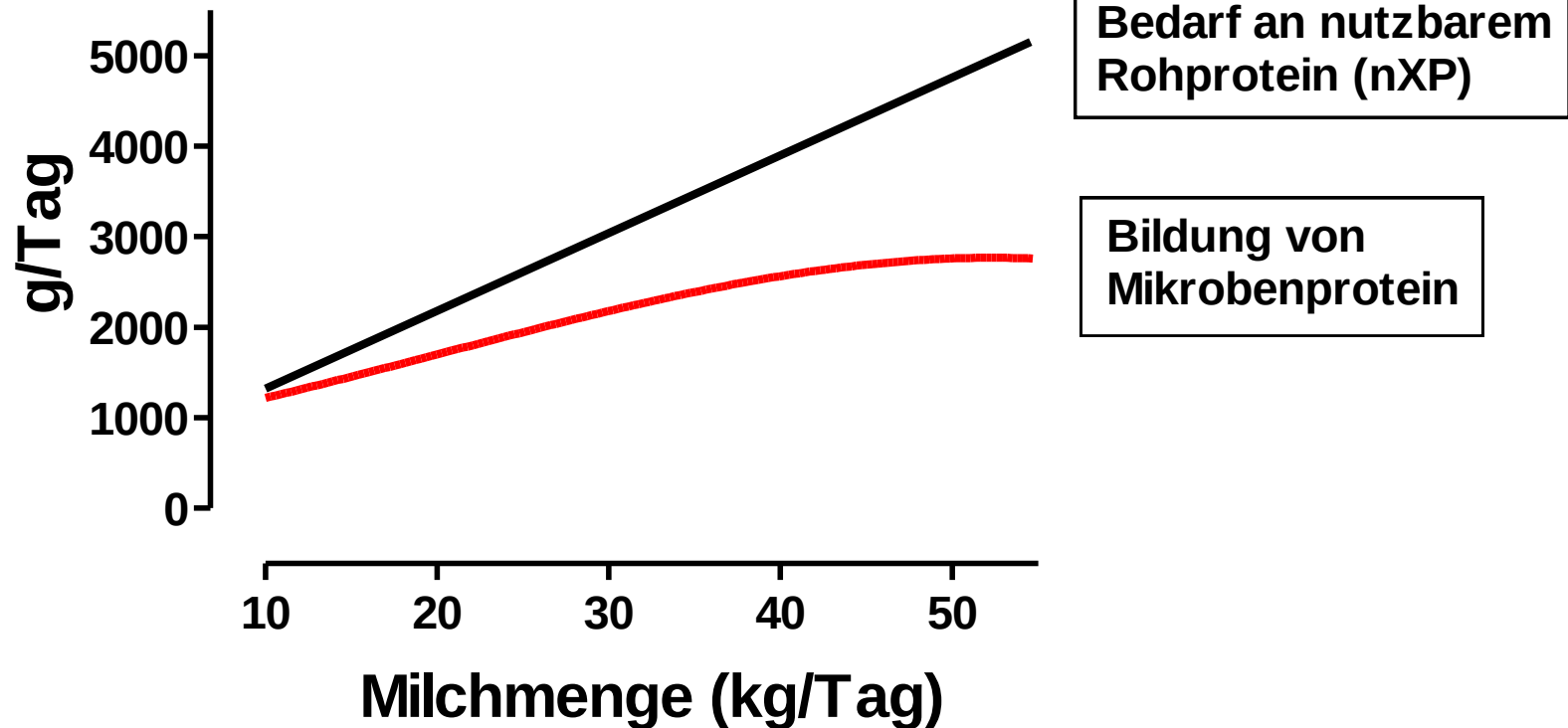


Fusionierung mit Zellmembran (apokrine Freisetzung)

Engelhardt, Breves, Physiologie der Haustiere der Haustiere, 2005, 2. Auflage, Enke Verlag

Milchleistung und Proteinversorgung

● nXP nach GfE (1997) ● 10,1 g Mikrobenprotein je MJ ME



Kalkulierter N-Transfer aus Mikrobenprotein in Milchprotein bei laktierenden Ziegen (mod. nach Petri et al. 1988)



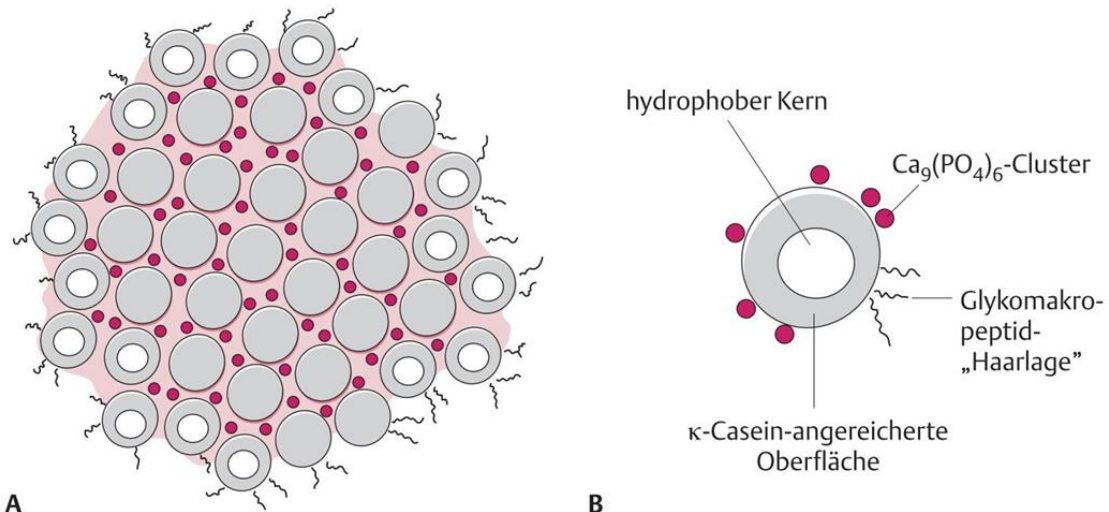
<u>Laktationswochen</u>	<u>5 – 6</u>	<u>11 – 12</u>	S.E.
Nettoertrag von mikrobiell assimiliertem N (g N/Tag)	37,9	34,1	3,7
Anteil Mikroben-N/Ammoniak-Pool	0,70	0,70	
Sekretion von Milchprotein (g N/Tag)	13,5	11,0	1,0
Anteil Milchprotein-N/Mikroben-N	0,49	0,48	0,03
Milchprotein-N mikrobiellen Ursprungs (g N/Tag)	6,6	5,3	0,6
Milchprotein-N nicht mikrobiellen Ursprungs (g N/Tag)	6,9	5,7	0,5
Milchleistung (kg/Tag)	3,45	2,96	0,24

Hauptinhaltsstoffe – Milchprotein

Caseine

- Synthese im Euter (aus Aminosäuren, die Na^+ -abhängig (System A) und Na^+ -unabhängig (System L) aus dem Plasma aufgenommen werden; für 37 l Milch werden 1 kg AS benötigt!)
- unlöslich bei pH 4,6
- empfindlich gegenüber zweiwertigen Kationen
- hydrophob und hitzestabil
- assoziieren im GA zu Micellen, zusammen mit Ca, P, Mg und Citrat
- α -, β - und κ -Caseine

Engelhardt, Breves, Diener,
Gäbel: Physiologie der
Haustiere der Haustiere,
2015, 5. Auflage, Enke
Verlag

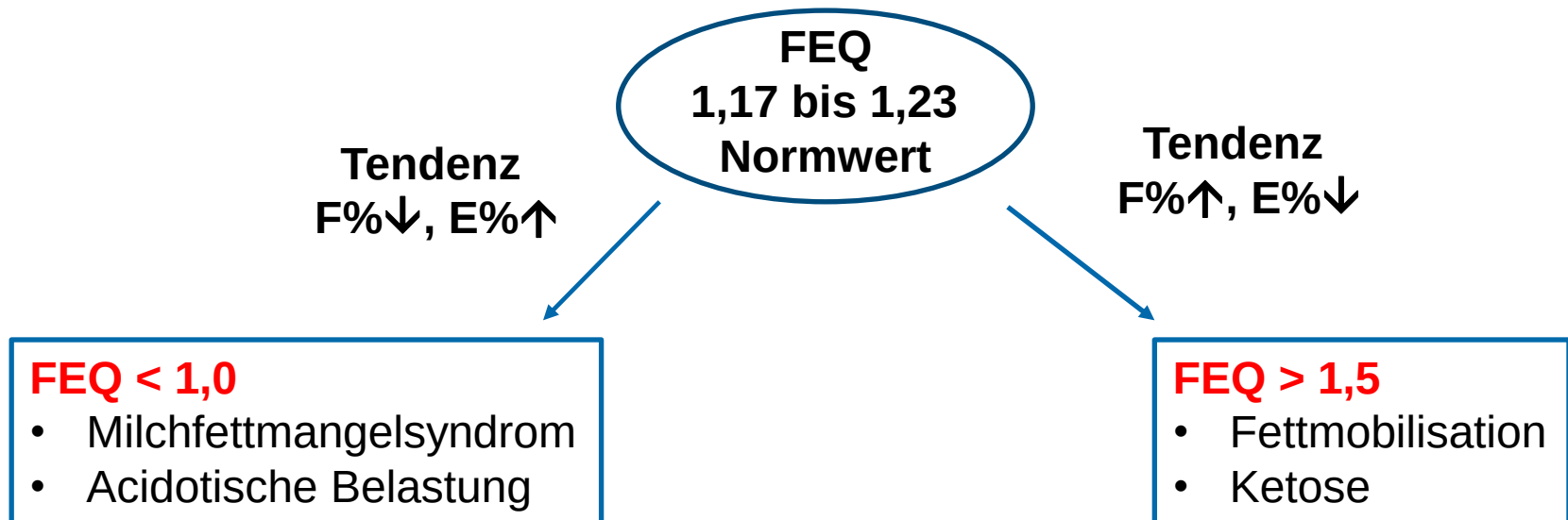


Hauptinhaltsstoffe – Milchprotein

Milchserum – Molkenproteine

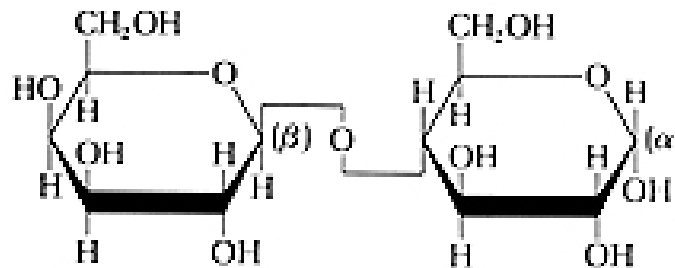
- löslich bei pH 4,6
- nicht hitzestabil
- α -Lactalbumin, β -Lactoglobuline und IgA aus dem Euter
- Milchserumalbumin, IgG und IgM aus dem Plasma
- Lactoferrin

Fett-Eiweiß-Quotient (FEQ)



Hauptinhaltsstoffe – Lactose

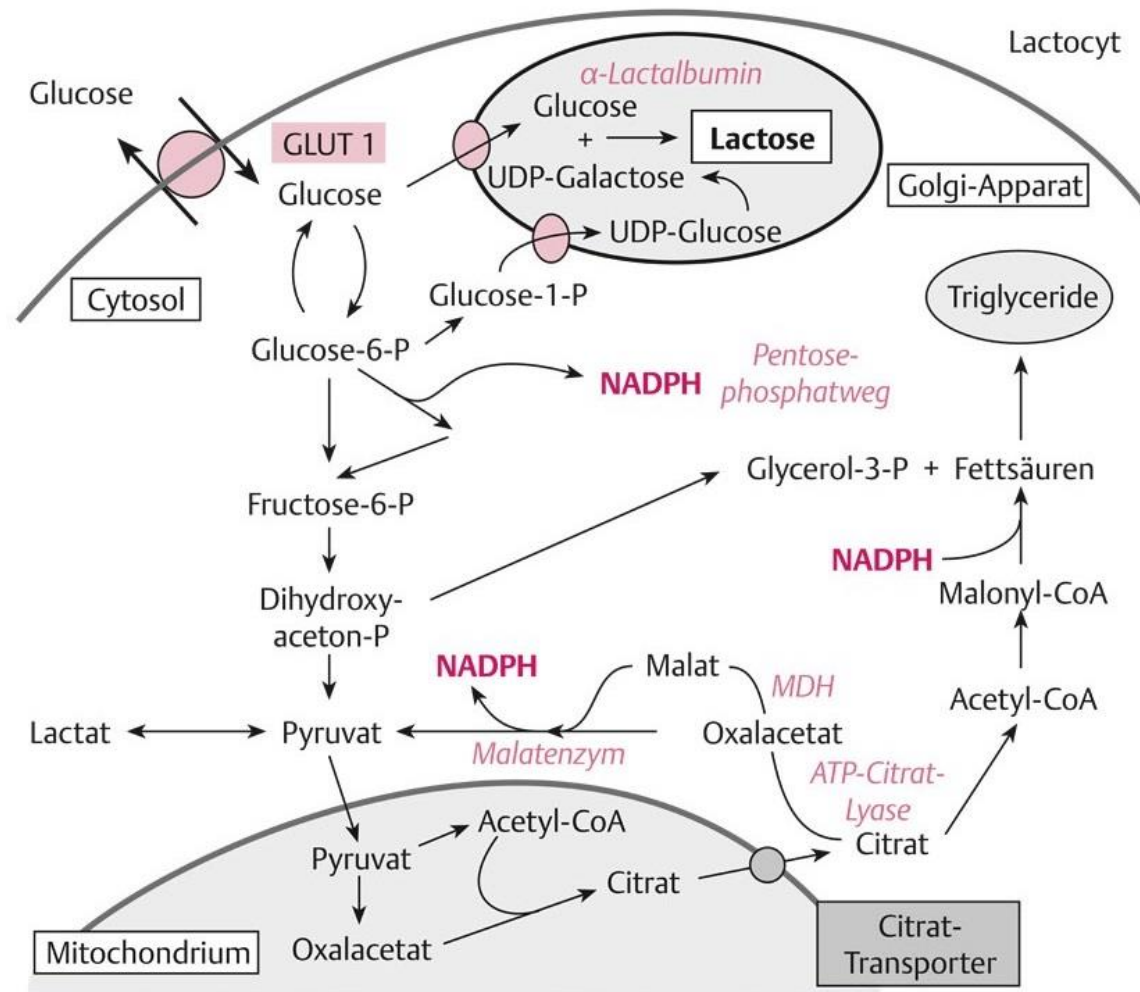
- Lactose: Dissacharid aus Galactose und Glucose, 1,4- β -glycosidisch verbunden



- Synthese erfolgt im Euter aus Glucose (insulinunabhängiger GLUT1), Galactose wird im Euter ebenfalls aus Glucose synthetisiert (Glucose-1-Phosphat-UTP-Transferase, UDP-Galactose-4-Epimerase)
- 70 – 90% der verfügbaren Glucose werden für die Milchproduktion verwendet

Glucose ist essentiell für die Lactose- und damit Milchsynthese und kann durch keinen anderen Zucker ersetzt werden!

Hauptinhaltsstoffe – Lactose



Engelhardt, Breves, Diener,
Gäbel: Physiologie der
Haustiere der Haustiere
2015, 5. Auflage, Enke
Verlag

Quantifizierung des Glukosebedarfs für die Milchbildung

Milch	Laktose-Abgabe¹⁾	Glukosebedarf ²⁾
kg/Tag	kg/Tag	kg/Tag
25	1,20	1,8
35	1,68	2,5
45	2,16	3,2
55	2,64	4,0

¹⁾ Laktosegehalt der Milch: 48 g/kg; ²⁾ Unter Einbeziehung weiterer Stoffwechselwege, z.B. Pentosephosphatzyklus (geschätzt nach Kronfeld et al. 1968)

Sekretion von Ionen

Im Vergleich zum Blutplasma enthält die „reife“ Kuhmilch:

ca. 1/10 der Chlorid-Konzentration

ca. 1/10 bis 1/20 der Natrium-Konzentration

aber

Calcium 13-fach

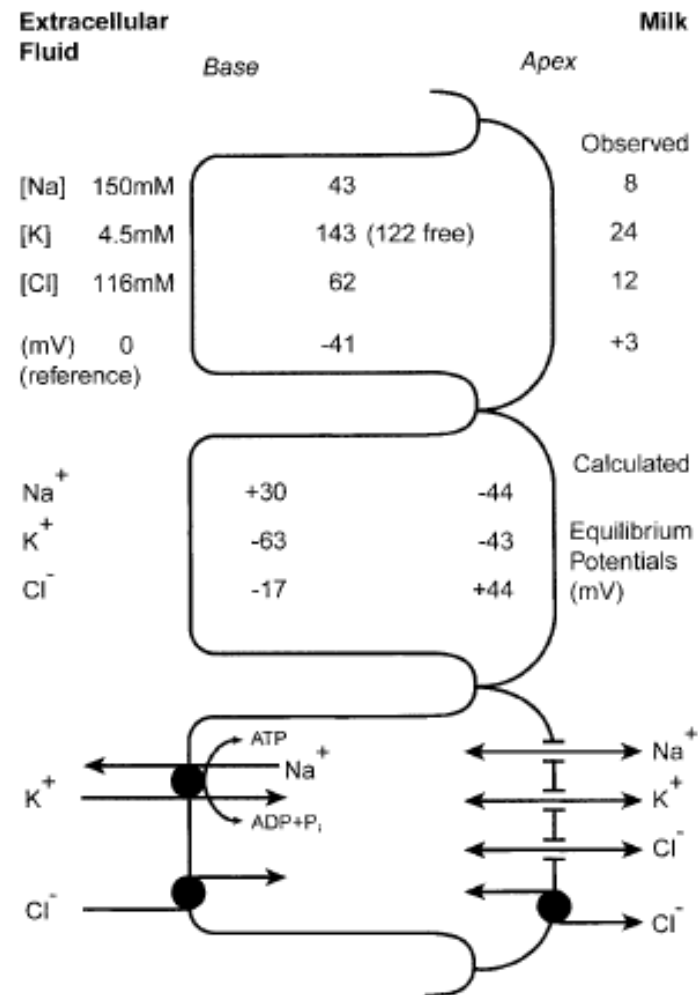
Phosphor 9-fach

Kalium 5-fach

Magnesium 5-fach

höher!

Ionen-Verteilung und Membranpotenziale im Milchdrüsen-Gewebe



(Shennan & Peaker, 2000)

Nicht-invasive Gewinnung alveolärer Membranfragmente

(Shennan 1992, Huber, Muscher, Breves 2007)



Endgemelk laktierender Ziegen

- Zentrifugation 3.500 g 10 min



Magermilch

- Zentrifugation 100.000 g
10 min 10°C



Membranfragmente oberhalb des Casein-Pellets: „fluffy layer“

- Resuspendierung: Cholinchlorid
(150 mmol/l) + BES (10 mmol/l)
pH 7,4
- Zentrifugation 100.000 g
40 min 10°C



Membranpellet

- Resuspendierung: Mannitol
(100 mmol/l) + KCl (100 mmol/l)
+ HEPES-Tris Puffer (10 mmol/l)
pH 7,4

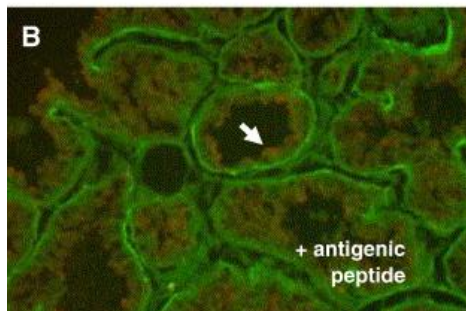
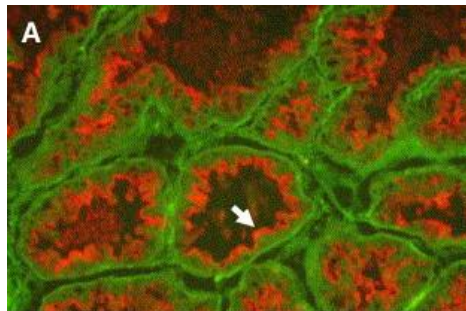
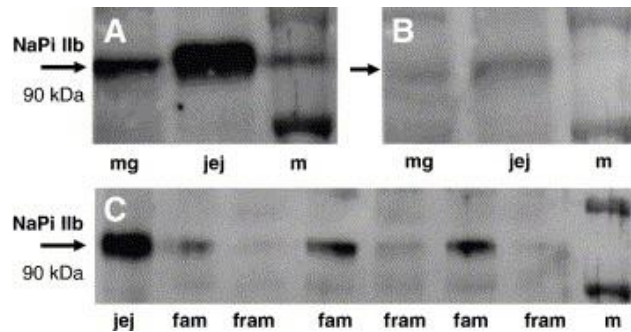


Membranvesikel

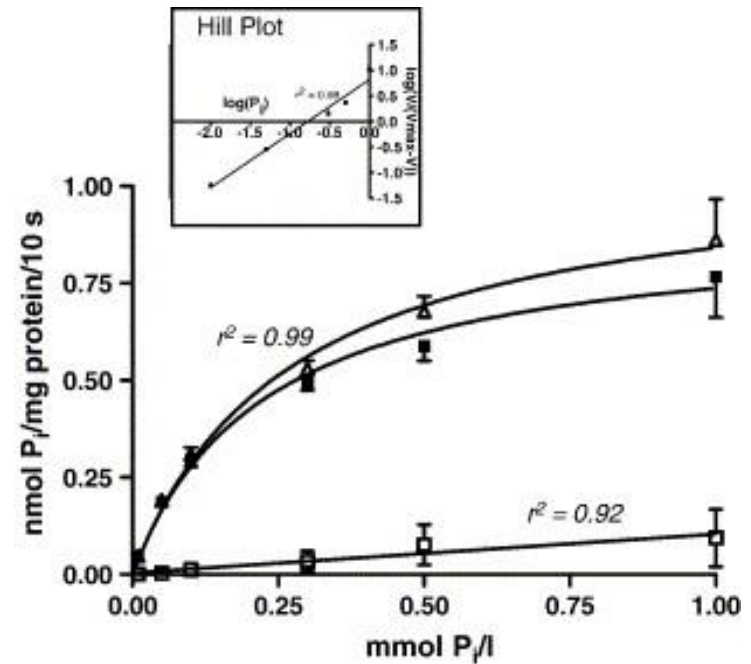
Sekretion von Phosphat in der Milchdrüse

(Huber, Muscher, Breves 2007)

Nachweis von NaPi IIb



Kinetik der P_i -Aufnahme



$$V_{\max} = 0,903 \text{ nmol } P_i/\text{mg Protein}/10 \text{ s}$$

$$K_m = 0,22 \text{ mmol/l}$$

Mechanismen des Ca^{2+} - und P_i -Transportes

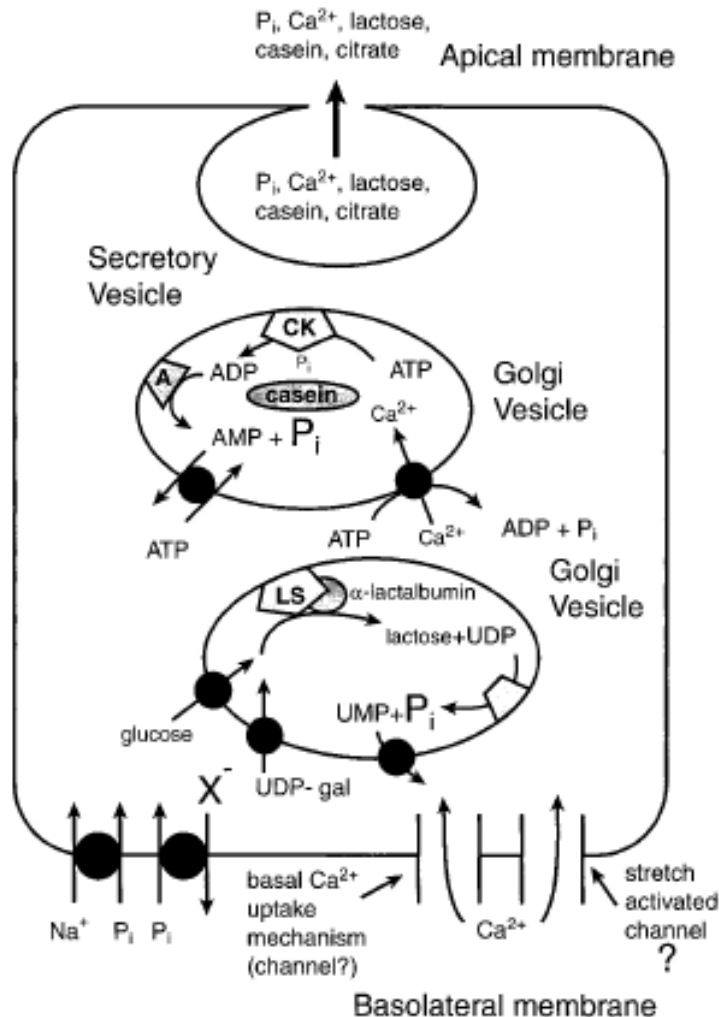


FIG. 4. A schematic diagram of the mechanisms that may be involved in the transport and metabolism of phosphate and Ca^{2+} in mammary secretory cells. Phosphate is transported across the basolateral membrane via a (Na^+ - P_i) cotransport mechanism and possibly by an anion-exchange system. P_i is formed within the lumen of the Golgi during the synthesis of lactose as a consequence of the hydrolysis of UDP-galactose. In addition, P_i is generated during the process of casein phosphorylation. The mechanism of Ca^{2+} uptake across the basolateral membrane has not been precisely identified but may be a Ca^{2+} channel. Stretch-activated Ca^{2+} channels may also provide a pathway for Ca^{2+} uptake. Ca^{2+} is pumped across Golgi membranes by a Ca^{2+} -ATPase. P_i and Ca^{2+} are transported into milk along with lactose, casein, and citrate after exocytosis of Golgi-derived vesicles at the apical aspect of the secretory cells. LS, lactose synthase; CK, casein kinase; A, ADPase.

(Shennan & Peaker, 2000)

Gliederung

1. Einleitung
2. Zusammensetzung der Milch
3. Durchblutung der Milchdrüse
4. Komplexität der Milchbildung und -sekretion
 - Fett
 - Proteine
 - Lactose
 - Elektrolyte
5. Regulationsmechanismen
 - Allgemein
 - Lactogenese
 - Galactopoese

Regulation der Entwicklung der Milchdrüse und der Laktation, Phasen

1. **Mammogenese** (= morphologische Entwicklung der Milchdrüse)

Pränatale Mammogenese (= Entwicklung der Anlagen der Zitzen, Zisternen und Milchgänge)

Postnatale Mammogenese (= Ausreifung der Milchdrüse)

Östrogene: Wachstum von Zitzen und Milchgängen

Progesteron: Wachstum von Alveolen und Lactozyten

2. **Kolostrogenese**

Drüsensekret mit Immunglobulinen

3. **Laktogenese**

Phase 1: Enzymatische Ausdifferenzierung der Lactozyten;

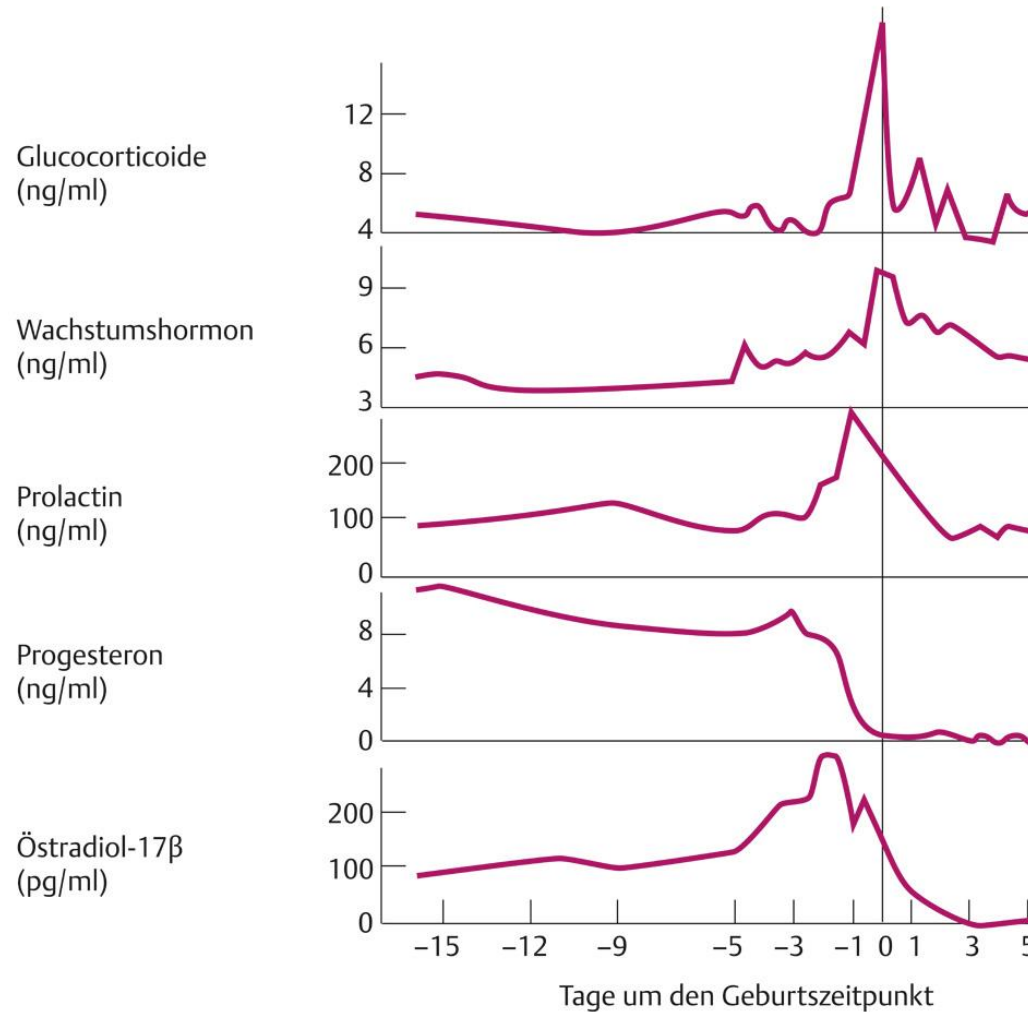
fetale Glucocorticoide

Phase 2: Synthese der Milchbestandteile; Prolactin

4. **Galactopoese**

Aufrechterhaltung der Milchbildung und ihrer Sekretion

Regulation der Laktation: Hormonprofile und Lactogenese



Regulation der Laktation

1) Lactogenese

Phase I:

- Ausdifferenzierung der Lactozyten (Weiterentwicklung ER und GA)
- Beginn: Mitte der Trächtigkeit
- Erhöhung der Genexpression der Hauptmilchproteine (aber keine nennenswerte Sekretion => wird durch Progesteron (P4) gehemmt)
- Hormone
 - Lactogene Wirkung v.a. durch **(fetale) Glucocorticoide**
 - **GH/IGF1**

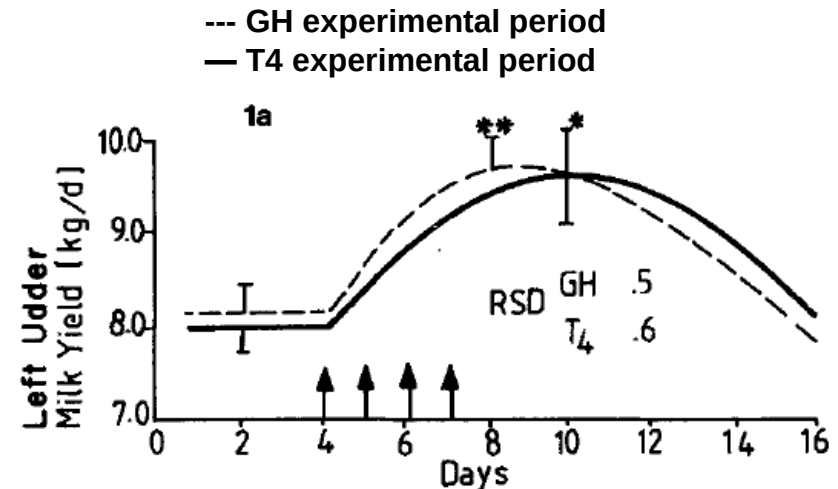
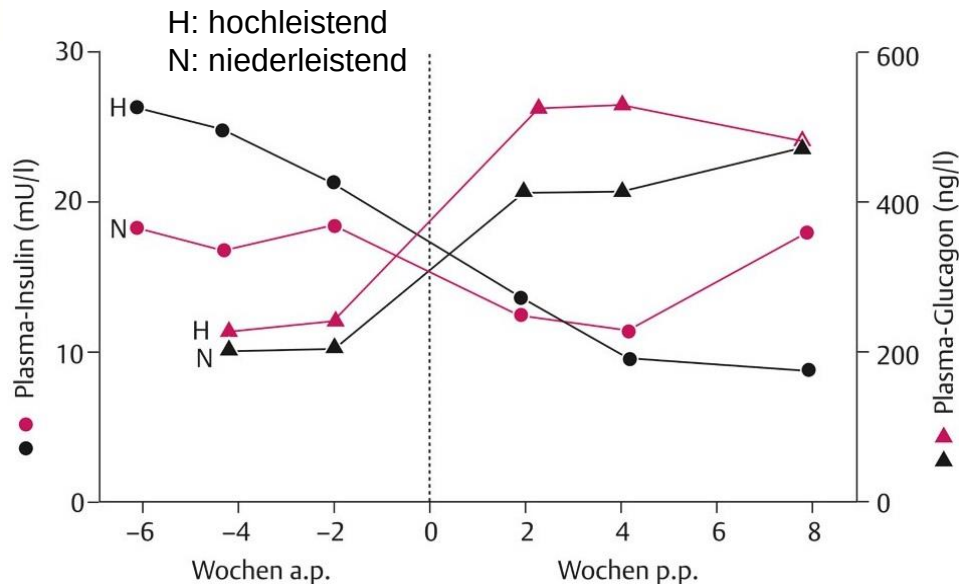
Phase II

- Synthese und Sekretion der Milchbestandteile
- Hormonelle Voraussetzung
 - **P4↓**, dadurch Erhöhung der **Prolactinsekretion** (beim Wdk. bereits deutlich ante partum)
- v.a. wichtig für Lactose - und Proteinsynthese
- Schließen der Blut-Euter-Schranke (tight junctions)

Regulation der Laktation

2) Galactopoesis

- beim Rind v.a. somatotrope Achse (**GH, IGF1, IGF-Bindungsproteine**)
- **Schilddrüsenhormone** ↓ (reduzierte Stoffwechselrate peripherer Gewebe)
- Glucocorticoide ↑ (Gluconeogenese ↑)
- postpartale Abnahme der **Insulin**sekretion und –sensitivität (Insulinmangel und –resistenz => Bevorzugung der insulinunabhängigen Milchdrüse)
- **Oxytocin** für Milchejektion



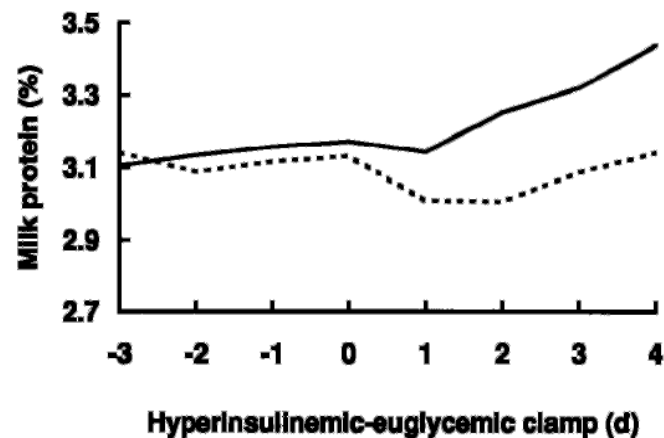
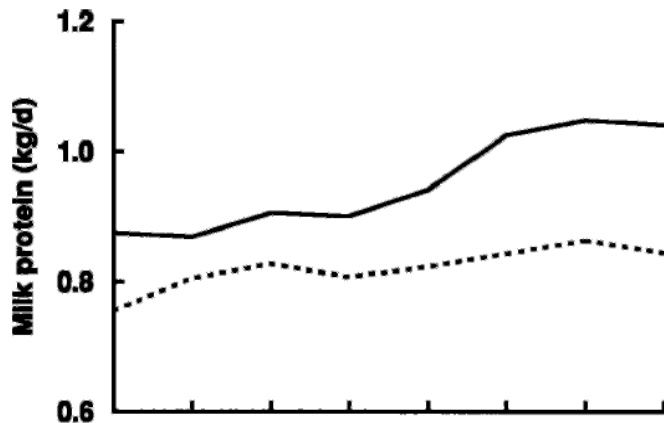
RSD residual standard deviations

Engelhardt, Breves, Diener, Gäbel, Physiologie der Haustiere, 5. Auflage, 2015, Enke Verlag

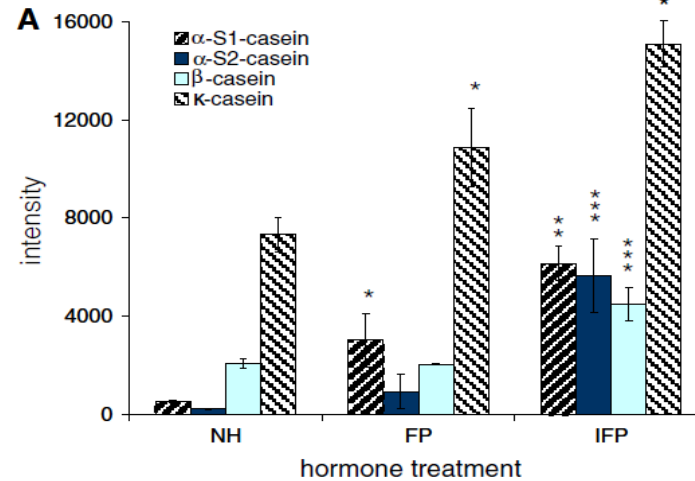
Davis et al. 1988, J Anim Sci 66:70-79

Regulation der Laktation – Milchprotein

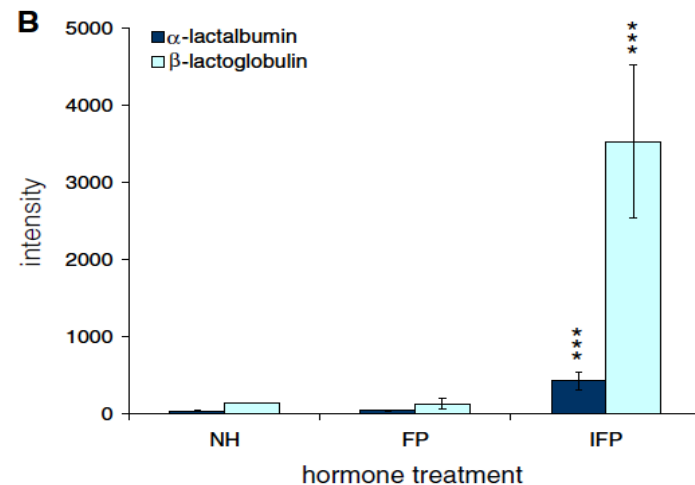
Insulin führt zu einer Erhöhung des Milchproteins und der Genexpression von Milchproteinen (in Anwesenheit von Prolactin und Corticosteron)



Griinari et al. 1997, J Dairy Sci 80: 2361-2371



NH: no hormones
FP: cultured in hydrocortisone and prolactin
IFP: cultured in insulin, hydrocortisone and prolactin



Menzies et al. 2003, Funct Integr Genomics 9:197-217

Regulation der Laktation

2) Galactopoesis

- **Melkfrequenz** beeinflusst Milchleistung

TABLE 1. Milk yield and component responses to milking frequency (MF).¹

Item	Milk yield	Fat	Fat yield	Protein	Protein yield
	(kg/d)	(%)	(g/d)	(%)	(g/d)
Studies, no.	4	4	4	4	4
MF					
1×	9.4	4.29	408	3.64	342
2×	15.6	4.18	665	3.56	564
Difference (2× - 1×)	6.2	-.11	257	-.08	-222
SEM ²	.2	.06	8	.04	5
Studies, no.	40	18	18	4	4
MF					
2×	19.5	3.65	841	3.10	772
3×	23.0	3.51	933	3.05	856
Difference (3× - 2×)	3.5	-.14	92	-.06	84
SEM	.2	.03	12	.03	18
Studies, no.	4	3	3	3	3
MF					
2×	24.8	4.71	1232	3.49	913
4×	29.3	4.53	1346	3.44	1025
Difference (4× - 2×)	4.9	-.18	115	-.04	112
SEM	.8	.03	1	.01	10

¹× = Times daily.

²Standard error of the mean for the difference.

Erdman and Varner 1995, J Dairy Sci 78:1199-1203.

Regulation der Laktation – Milchfett

TABLE 2 Rumen volatile fatty acids (VFA) and milk fat depression for cows fed a low-fiber (LF) diet consisting of high grain plus low roughage

Variable	Diet	
	Control	LF
Milk ^a		
Yield, kg/d	19.1	20.9
Fat content, %	3.6	1.7*
Fat yield, g/d	683	363*
Rumen VFA, molar percent ^a		
Acetate	67	46*
Propionate	21	46*
Butyrate	11	9
Acetate:propionate ratio	3.2	1.0*
Rumen production, moles/d		
Acetate ^b	29.4	28.1
Propionate ^c	13.3	31.0*
Whole body entry rate, mg/min kg ⁷⁵		
β -hydroxybutyrate ^d	3.40	4.43

Haupteinflussfaktor: Ration

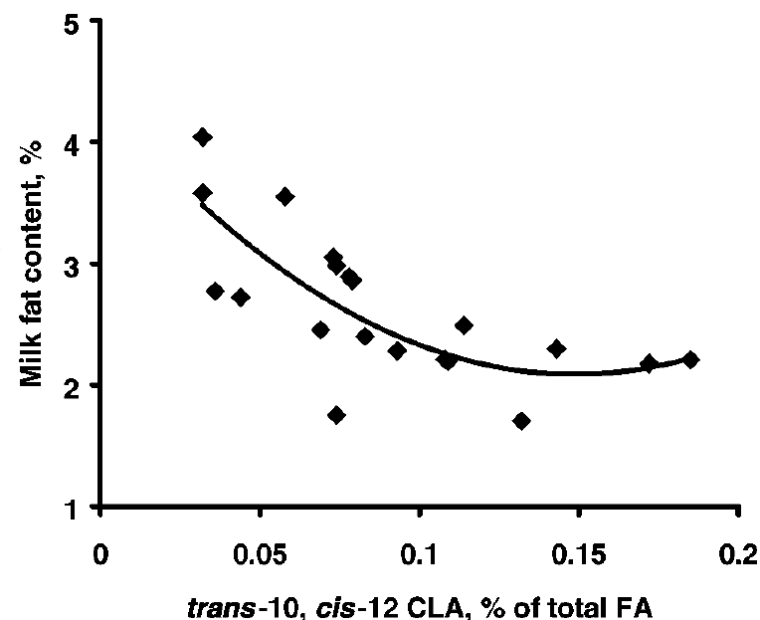
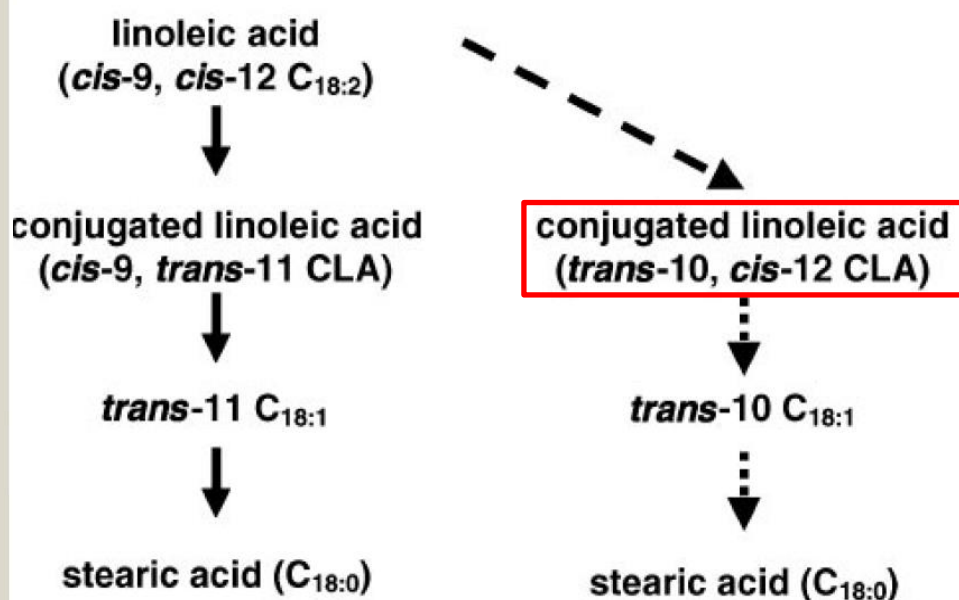
Eine Rfa-arme, konzentratreiche Ration führt zur Abnahme des Milchfettgehaltes

Regulation der Laktation – Milchfett

Eine Rfa-arme, konzentratreiche Ration führt zur Abnahme des Milchfettgehaltes

Grund?

Unvollständige Biohydrierung von Linolsäure im Pansen durch absinkenden pH



Bauman & Griinari 2003 Annu Rev Nutr 23: 203-227

Fazit

Milchdrüse als Bioreaktor
mit extrem hoher
Kapazität und Flexibilität

Enger systemischer Bezug
zwischen Milchbildung,
Vormagen- und
Intermediärstoffwechsel



Lebensmittel mit
hohem ernährungs-
physiologischen Wert

Milchbildung und -sekretion
als Indikatoren der
Tiergesundheit