

Blood plasma biomarkers correlating with hepatic lipidosis in dairy cows

Doctoral Thesis

Author(s):

Imhasly, Sandro

Publication date:

2015

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010401918>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 22534

Blood plasma biomarkers correlating with hepatic lipidosis in dairy cows

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

SANDRO IMHASLY

MSc ETH in Chemistry, ETH Zurich, Switzerland

born on 03.08.1980

citizen of
Fieschertal, VS

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Shana Sturla
Prof. Dr. med. vet. Hanspeter Naegeli
Prof. Dr. Michael Arand

2015

Summary

Fatty liver disease is a major metabolic disorder of dairy cows in their early lactation. The syndrome is associated with impaired health, reduced immunity which leads to infections, and decreased reproductive performance. Fatty liver disease is recognized as a major herd problem and represents a serious animal welfare concern. The disorder is associated with increased veterinary costs, longer calving intervals and decreased lifetime and, hence, causes huge economic losses worldwide.

The pathogenesis of this disease is closely associated with the transition period between the end of gestation and the beginning of lactation, during which high-performance dairy cows experience a negative energy balance. Although the organism attempts to maintain milk production, the voluntary feed intake declines by 30–40% around calving. To compensate for this lack of energy, fat is mobilized from the adipose tissue in the form of non-esterified fatty acids and transported to different organs.

The liver is able to reconvert non-esterified fatty acids to triacylglycerides and subsequently store them in hepatocytes. When the incorporated non-esterified fatty acids exceed their amount secreted from the liver as triacylglycerides, they accumulate in the liver and fatty liver disease develops. In cattle, the ability to release hepatic triglycerides into the blood as very low-density lipoproteins is extremely low compared to non-ruminant animals. Therefore, high-producing cows are particularly susceptible to the development of this specific illness. Indeed, up to 40% of dairy cows have a tendency to moderate or even severe fatty liver disease.

Serum biochemical abnormalities depend on the severity of the disease and are not reliable for the diagnosis of fatty liver disease. Increased blood levels of liver enzymes reflect hepatic tissue damage, yet fail to display a specificity for fatty liver disease. Therefore, a major challenge for veterinary clinicians is that the fatty liver disease can currently only be diagnosed by liver biopsy.

This PhD thesis addresses the pathogenic background of the fatty liver disease and monitors changes in pathways accompanying this disease. The altered plasma lipidome during the transition period is expected to precede the manifestation of fatty liver disease. To identify potential blood biomarkers as a new diagnostic alternative, plasma of healthy and diseased cows were subjected to untargeted and targeted lipidomic analysis by mass spectrometry. This thesis reveals reduced plasma concentrations of phosphatidylcholines in cows with fatty liver disease. On the basis of these altered lipidomic patterns, it is possible to distinguish between dairy cows with no fatty liver disease and those with different stages of the disorder. Furthermore, plasma of cows during the transition period was analyzed to show how the lipidome develops from the condition two weeks before calving to the stage four weeks after calving. This work shows that triacylglyceride concentrations drop after calving whereas phosphatidylcholine concentrations rise continuously after calving. This concomitant shift in the blood triacylglycerides and phosphatidylcholines reflects the physiologic adaptation of lipoproteins during the transition period. These results constitute the basis for the development of a new minimally invasive method for the diagnosis of fatty liver disease in dairy cows.

Zusammenfassung

Das Fettlebersyndrom ist eine bedeutende Stoffwechselstörung bei Milchkühen in der Frühlaktation. Das Syndrom hängt oft mit weiteren Erkrankungen zusammen, die zu Infektionen und verminderter Fortpflanzungsfähigkeit führt. Die Krankheit verursacht erhöhte Tierarztkosten, längere Zwischenkalbezeiten, verringerte Lebensdauer und führt zu grossen wirtschaftlichen Verlusten weltweit.

Die Pathogenese ist eng mit der Übergangszeit am Ende der Schwangerschaft bzw. Beginn der Laktation verbunden. Die Futterraufnahme sinkt während dieser Zeit um 30–40% und die Kuh führt dadurch weniger Energie zu als sie verbraucht. Trotz dieser negativen Energiebilanz ist der Organismus fähig durch Mobilisation der Fettreserven Energie für die einsetzende Laktation bereitzustellen. Die Fettreserven werden hierbei als nicht veresterte Fettsäuren im Körper verteilt. Die Leber hat die Eigenschaft, die nicht veresterten Fettsäuren wieder zu Triglyceriden zu verestern und gegebenenfalls in den Hepatocyten zu speichern. Übersteigt die Einlagerung von Triglyceriden den Abbau und Abtransport derselben, findet eine Verfettung der Leber statt. Für den Transport von Triglyceriden aus der Leber heraus ins Blut sind Lipoproteine mit sehr geringer Dichte verantwortlich. Diese Fähigkeit besitzen Hochleistungskühe nur in geringen Massen und sind dadurch anfällig für das Fettlebersyndrom. Bis 40% der Kühe in der peripartalen Phase leiden an einer moderaten bis schweren Verfettung der Leber.

Biochemische Veränderungen im Serum sind abhängig vom Schweregrad der Erkrankung und diagnostisch unzuverlässig.

Erhöhte Konzentrationen von Leberenzymen weisen zwar auf einen Leberschaden hin, sind jedoch nicht spezifisch für das Fettlebersyndrom. Die definitive Diagnose kann deshalb nur invasiv mit einer Leberbiopsie gestellt werden.

Diese Dissertation beschäftigt sich mit den Veränderungen der Lipidzusammensetzung und deren Mechanismen beim Fettlebersyndrom. Um potentielle Biomarker für eine diagnostische Alternative zu identifizieren, wurde Plasma von gesunden und kranken Kühen mittels ungezielter und gezielter Lipidomics-Analyse massenspektrometrisch untersucht. Es wurde nachgewiesen, dass bei Kühen mit Fettlebersyndrom die Plasmakonzentrationen von Phosphatidylcholinen reduziert sind. Damit ist es nun möglich zwischen gesunden Kühen und Kühen mit unterschiedlichen Schweregraden von Fettlebersyndrom zu unterscheiden. Zusätzlich wurden Kühe während der peripartalen Periode geprüft um deren Lipidzusammensetzung im Blut während der Zeit von zwei Wochen vor bis vier Wochen nach dem Kalben zu untersuchen. Die Analyse zeigt einen Rückgang der Triglyzeriden am Tag des Kalbens während die Phosphatidylcholine nach der Kalbung kontinuierlich steigen. Die Verschiebungen in den Konzentrationen von Triglyzeriden und Phosphatidylcholinen sind Konsequenzen der physiologischen Anpassung der Lipoproteine an die Transitionsperiode. Diese Ergebnisse bilden die Grundlagen für eine neue Analysemethode zur minimalinvasiven Diagnostik des Fettlebersyndroms bei Milchkühen.