

## 7. Zusammenfassung

Bei Schafen und Milchkühen mit Ketose treten vor bzw. nach der Geburt Störungen der Glucose- und Calciumhomoöstase auf. Aufgabe dieser Arbeit war es, festzustellen, ob die Hypocalcämie einen Einfluß auf den Ketonkörperstoffwechsel hat und inwieweit eine Hypocalcämie eine experimentell durch Ketonkörper verursachte Glucosestoffwechselstörung potenziert. Die Untersuchungen wurden an Ferkeln der "Hannoverschen Zuchtlinie" mit erblicher Hypocalcämie ( $n = 5$ ) (Pseudo Vitamin D-Mangelrachitis, Typ I, und an gesunden Kontrolltieren ( $n = 4$ ) durchgeführt. Für die Versuche wurden 8 - 12 Wochen alte Absatzferkel mit einem Gewicht zwischen 6 und 14 kg verwendet. Während der Versuche wurden die Tiere einzeln in Stoffwechsellkäfigen gehalten. Dazu wurde Ferkeln mit erblicher Hypocalcämie über 48 h eine 0.07 molare  $\text{CaCl}_2$ -Lösung mit einer Rate von  $2 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  infundiert, um das  $\text{Ca}^{2+}$  im Blut von  $< 1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  auf  $1.3 - 1.5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  anzuheben. Bei Kontrolltieren wurde das  $\text{Ca}^{2+}$  im Blut für die Zeit von einer Stunde vor sowie während der 4 1/2-stündigen Versuche durch eine 0.04 molare  $\text{Na}_2$ -EDTA Infusion ( $7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) auf Werte  $< 1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  abgesenkt. DL- $\beta$ -Hydroxybutyrat (D- $\beta$ -OHB-Anteil 40 %) wurde in Dosierungen von 75 und  $125 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  über 300 min intravenös infundiert. Zur Messung kinetischer Parameter des Ketonkörperstoffwechsels wurde  $3[^{14}\text{C}]\text{D-}\beta\text{-OHB}$  und  $3[^3\text{H}]\text{Glucose}$  in zeitlicher Folge jeweils während der hohen und der niedrigen DL- $\beta$ -OHB Infusion als Einmalinjektion intravenös injiziert. In den Blutproben wurde die  $[^{14}\text{C}]$ -Radioaktivität, die  $[^3\text{H}]$ -Radioaktivität, der pH-Wert, sowie die Konzentrationen von Kalium, Calcium, D- $\beta$ -OHB und Glucose gemessen. Aus dem Abfall der  $[^{14}\text{C}]$ -Radioaktivität im Blut wurde die Ratenkonstante von D- $\beta$ -OHB bzw. aus dem Abfall der  $[^3\text{H}]\text{Glucose}$  der Glucoseumsatz berechnet. Harn wurde während des Versuchs kontinuierlich gesammelt und die darin enthaltenen D- $\beta$ -OHB Konzentration gemessen.

Bei gesunden Versuchsferkeln senkte Hypocalcämie die Ketonkörperratenkonstante (D-β-OHB + AcAc) signifikant um 13 %. Bei Tieren mit erblicher Hypocalcämie war die Ratenkonstante für D-β-OHB signifikant größer als bei den gesunden Kontrollen und konnte durch eine CaCl<sub>2</sub>-Dauerinfusion nicht weiter gesteigert werden. Hohe DL-β-OHB Zufuhr führte gegenüber niedriger DL-β-OHB Belastung bei gesunden Ferkeln zu einem signifikanten Absinken des Blutglucosespiegels um 16 %. In beiden Gruppen (kranke + gesunde) führte die hohe Ketonkörperbelastung bei Hypocalcämie zu signifikant niedrigeren (17 %) Glucosespiegeln als bei Normocalcämie. Die Hypocalcämie hemmt bei beiden DL-β-OHB Infusionsraten die Glucoseproduktion signifikant um 33 %. Während der DL-β-OHB Infusion sanken das ionisierte Ca im Blut (bezogen auf pH 7.4) um 0.1 mmol · l<sup>-1</sup> und das Blutkalium um 2.5 mmol · l<sup>-1</sup> signifikant ab. Die pH-Werte des Blutes stiegen bei den normocalcämischen Kontrolltieren von 7.41 ±0.033 auf 7.59 ±0.026 und bei normocalcämisch kranken Ferkel von 7.44 ±0.04 auf 7.57 ±0.017 an.

Bei Ferkeln bestehen Wechselwirkungen zwischen dem Blutcalciumspiegel, dem Ketonkörper- und Glucoseumsatz. Die Art der Wechselwirkung ist jedoch offenbar von der hormonellen Gesamtkonstellation der Tiere abhängig und war daher bei durch Na<sub>2</sub>-EDTA induzierter bzw. bei erblicher Hypocalcämie verschieden. Hohe Ketonkörperbelastung führt bei gesunden Ferkeln zu einem Absinken des Glucosespiegels im Blut. Dieser Effekt wird durch Hypocalcämie verstärkt. Diese Wechselwirkungen könnten bei der Pathogenese ketotischer Stoffwechselerkrankungen bei Wiederkäuern ebenfalls eine Rolle spielen.

Barthel, Burkhard

The influence of ketone bodies concentration in blood on metabolism of glucose and ketone bodies in relation to the extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration.

-----

## 8. Summary

Bovine and ovine ketosis is characterized by a disturbance of the glucose and calcium homeostasis after or before parturition, respectively. The purpose of this study was to determine the influence of hypocalcemia on metabolism of ketone bodies. In particular, it should be examined to what extent hypocalcemia exaggerates a disturbance of the glucose metabolism caused by ketone bodies.

The experiments were carried out with piglets of the "Hanover Pig Strain" which suffered from inherited hypocalcemia ( $n = 5$ ) (pseudo vitamin D deficiency rickets, type PVDR I) and control piglets ( $n = 4$ ). The weaned animals were 8 - 12 weeks old with a body weight of 6 to 14 kg. During the experiments the animals were held in metabolic cages. Piglets with hereditary hypocalcemia were infused intravenously with a 0.07 molar  $\text{CaCl}_2$  solution for 48 h at a rate of  $2 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . This raised the blood  $\text{Ca}^{2+}$  level from values  $< 1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  to 1.3 - 1.5  $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Control animals were infused intravenously a 0.04 molar  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  solution at a rate of  $7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  starting one hour before until the end of the experiments. This lowered the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in blood to values  $< 1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ . During the 300 min lasting experiments a racemate of DL- $\beta$  hydroxybutyrate (with 40 % of the racemate being in the D-form) was infused intravenously at two different rates. A 180 min lasting infusion rate with  $125 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  was followed by an infusion of  $75 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  for 120 min. During each period of DL- $\beta$ -OHB infusion a single dose of  $3[^{14}\text{C}]\text{D-}\beta\text{-OHB}$  and  $3[^3\text{H}]\text{glucose}$  was administered intravenously to the animals.

From the decay of  $^{14}\text{C}$  and  $^3\text{H}$  radioactivity in blood glucose turnover and the rate constant of ketone bodies metabolism were calculated.

Concentrations of D- $\beta$ -OHB, glucose and potassium in blood and pH-values were also determined. During the experiment urine was collected for measurement of D- $\beta$ -OHB concentration.

The following results were obtained in healthy piglets. EDTA induced hypocalcemia depressed the rate constant of ketone body (D- $\beta$ -OHB + AcAc) metabolism significantly by 13 %. In PVDR I piglets the rate constant of D- $\beta$ -OHB metabolism was significantly higher than in control piglets and could not be increased further by elevating blood  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. A high continuous load of DL- $\beta$ -OHB lowered blood glucose concentration in normocalcemic control piglets significantly by 16 %. During hypocalcemia a DL- $\beta$ -OHB load of  $125 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  lowered blood glucose concentration significantly by 14 % in both PVDR I and control piglets. At both levels of DL- $\beta$ -OHB infusion glucose appearance rate was significantly inhibited by 33 % during hypocalcemia compared to normocalcemia. Infusion of DL- $\beta$ -OHB lowered the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in blood significantly by  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  corrected for pH 7.4 and blood potassium significantly by  $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

In control normocalcemic piglets the pH value of the blood rose significantly from  $7.41 \pm 0.033$  to  $7.59 \pm 0.026$  in PVDR I normocalcemic piglets from  $7.44 \pm 0.04$  to  $7.57 \pm 0.017$ .

The experiments demonstrated that interactions exist in piglets between the blood calcium concentration and the turnover of ketone bodies and glucose. The experiments also showed that the interaction between calcium, ketone bodies and glucose turnover was also influenced by the hormonal status of the animal, since different responses to hypocalcemia were seen depending on whether hypocalcemia was induced by EDTA infusion or resulted from vitamin D deficiency. It is of interest to note, in control piglets a high blood load with ketone bodies resulted in a lowered concentration of glucose in blood. This depressive

effect is enhanced by hypocalcemia and might be of importance for the pathogenesis of ketotic metabolic disorders.