

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluß von Hypocalcämie und Reproduktionsstadium auf den Ketonkörper- und Glucosestoffwechsel beim Schaf zu untersuchen.

Bei 7 mindestens zweijährigen Mutterschafen mit normalem ( $1,29 \pm 0,07$  mmol/l) und durch EDTA-Infusion abgesenktem ( $0,93 \pm 0,03$  mmol/l) ionisiertem Calcium ( $\text{Ca}^{++}$ ) wurde der Umsatz von D- $\beta$ -Hydroxybutyrat (BHB) während BHB-Belastung und der Glucoseumsatz vor und während BHB-Belastung gemessen. Zu diesem Zweck wurden den Tieren  $15 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C}(3)\text{-D-}\beta\text{-Hydroxybutyrat}$  und zweimal  $50 \mu\text{Ci } ^3\text{H}(2)\text{-Glucose}$  intravenös verabreicht. Hypocalcämie wurde durch eine kontinuierliche intravenöse Infusion von  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  erzielt, die eine Stunde vor Versuchsbeginn begann. Die Blutcalciumkonzentration wurde während der Infusion mittels einer ionensensitiven Elektrode überwacht und die Infusionsrate entsprechend angepaßt. Die BHB-Belastung wurde durch eine kontinuierliche intravenöse  $\text{Na}_2\text{-DL-BHB-Infusion}$  (D:L=42:58 %) in Höhe von  $20,1 \pm 5,56 \mu\text{mol}/(\text{kg KGW} \cdot \text{min})$  (meßbarer D-Anteil) realisiert. Die Infusion wurde eine Stunde vor Beginn der Messungen gestartet. Die steady state D-BHB-Konzentration im Plasma betrug während der Belastung  $6,0 \pm 1,6$  mmol/l. Die Versuche wurden a) während des nicht tragenden - nicht laktierenden Stadiums, b) während der letzten 4 Wochen der Trächtigkeit und c) während der ersten 2 - 4 Wochen der Laktation durchgeführt.

In den Blutproben wurden die  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität, die  $^3\text{H}$ -Radioaktivität, der pH-Wert sowie die Konzentrationen von Calcium, D-BHB und Glucose gemessen. Aus dem Abfall der  $^{14}\text{C}$ - und der  $^3\text{H}$ -Radioaktivität wurden die Ratenkonstanten des Ketonkörper- und Glucoseumsatzes berechnet. BHB- und Glucoseumsatz wurden über das Integral der spezifischen Radioaktivitäts/Zeitkurve bestimmt.

Der Glucoseplasmaspiegel und der Glucoseumsatz wurden während aller Reproduktionsstadien durch die BHB-Belastung signifikant ( $p < 0,0001$ ) um mehr als 30 % gesenkt. Der Glucoseumsatz ging auch durch Hypocalcämie signifikant ( $p < 0,016$ ) um 34 % gegenüber Normocalcämie zurück. Der BHB-induzierte Rückgang des Glucoseumsatzes wurde durch Hypocalcämie jedoch nicht signifikant

weiter verstärkt. Glucoseumsatz und die Ratenkonstanten des Glucoseumsatzes waren bei laktierenden Schafen größer als in den anderen beiden Reproduktionsstadien und bei tragenden Schafen größer als bei nicht tragenden - nicht laktierenden Tieren (jeweils  $p < 0,05$ ).

Tragende Schafe hatten signifikant um 200 % höhere basale BHB-Plasmaspiegel als nicht tragende - nicht laktierende Tiere ( $p < 0,05$ ). Ihre Ratenkonstanten des endogenen BHB-Umsatzes waren um 67 %, die der laktierenden Schafe um 56 % niedriger als bei den nicht tragenden - nicht laktierenden Tieren ( $p < 0,05$ ). Der BHB-Umsatz während der BHB-Belastung war am niedrigsten bei den tragenden Schafen, deren Werte signifikant um 31 % unter denjenigen der nicht tragenden - nicht laktierenden und um 25 % unter denjenigen der laktierenden Tiere lagen. Der BHB-Umsatz korrelierte dabei mit  $r = 0,58$  mit dem BHB-Plasmaspiegel während der BHB-Belastung, der bei den tragenden Tieren niedriger war als bei den laktierenden ( $p < 0,05$ ). Die Ketonkörperatenkonstanten wiesen signifikante individuelle Unterschiede auf ( $p = 0,036$ ).

Der Blutcalciumspiegel der normocalcämischen Schafe nahm während der kontinuierlichen BHB-Infusion signifikant um 6 % ab ( $p = 0,0017$ ).

Die Ergebnisse machten deutlich, daß beim Schaf der in der Hochträchtigkeit gegenüber güsten Tieren gestiegene Energiebedarf nicht durch eine verstärkte Nutzung von Ketonkörpern gedeckt werden kann. Lipomobilisatorische Signale führen in diesem Reproduktionsstadium also lediglich zu einer Ketonämie ohne die unzureichende Energiebereitstellung zu beheben, wobei einzelne Tiere die anfallenden Ketonkörper offensichtlich schlechter verwerten können als andere und deshalb schneller eine Hyperketonämie entwickeln. Die Hyperketonämie hemmt die hepatische Gluconeogenese, verstärkt damit die Energieverwertungsstörung und treibt das Tier so über einen Circulus vitiosus in die klinische Ketose. Da auch Hypocalcämie die hepatische Glucoseproduktion hemmt, kann die Entstehung einer Gestationsketose durch diese in der Hochträchtigkeit nicht seltene Stoffwechselstörung zusätzlich vorangetrieben werden.

## 7. SUMMARY

Dorte Böhle:

Effects of ketonemia and hypocalcemia on the metabolism of ketone bodies and glucose in sheep at different reproductive stages.

It was the aim of this study to examine the influence of hypocalcemia and different reproductive stages on metabolism of ketone bodies and glucose in sheep.

Seven at least two year-old ewes with normal ( $1,29 \pm 0,07$  mmol/l) and low ionized Calcium ( $Ca^{++}$ ) ( $0,93 \pm 0,03$  mmol/l), reduced by i.v.  $Na_2$ -EDTA-Infusion were used to measure the turnover of D- $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) during a continuous BHB-load and the turnover of glucose before and during this BHB-load.

The animals received one intravenous injection of 15  $\mu$ Ci of  $^{14}C(3)$ -D- $\beta$ -hydroxybutyrate and two injections of 50  $\mu$ Ci of  $^3H(2)$ -glucose. Hypocalcemia was induced by continuous intravenous infusion of  $Na_2$ -EDTA which started one hour before and lasted until the end of the the experiment. The concentration of blood calcium was monitored by an ionsensitive electrode and the rate of  $Na_2$ -EDTA-infusion was adjusted accordingly. The BHB-load was achieved by continuous intravenous infusion of  $20,1 \pm 5,56$   $\mu$ mol of D-BHB per kg BW $\cdot$ min included in a 42.58% DL-racemate. The infusion was started an hour before sample collection. The steady state concentration of BHB in plasma during the continuous BHB-load was  $6,0 \pm 1,6$  mmol/l. The experiments were carried out a) during the non pregnant - non lactating stage, b) during the last four weeks of pregnancy and c) during the first two to four weeks of lactation.

In blood or plasma samples  $^{14}C$ -radioactivity,  $^3H$ -radioactivity, pH value and concentrations of calcium, D-BHB and glucose were measured. From the decay of  $^{14}C$  and  $^3H$ -radioactivity the rate constants of ketone body and glucose turnover were calculated. The turnover of ketone bodies and glucose was estimated by using the area under the specific radioactivity vs. time curve.

Glucose concentration in plasma and glucose turnover were significantly ( $p < 0,0001$ ) depressed by more than 30 % during BHB-load in all reproductive stages. Glucose turnover was also lowered by 34 % by hypocalcemia compared to normocalcemia ( $p < 0,016$ ). The BHB-induced depression of glucose turnover was not raised significantly by hypocalcemia. Glucose turnover and rate constants of glucose turnover were higher during lactation than during the other two reproductive stages, and were higher during pregnancy than during the non pregnant - non lactating stage ( $p < 0,05$ ).

The concentration of BHB in plasma in pregnant animals before the BHB-load was significantly higher by 200 % compared with non pregnant - non lactating animals ( $p < 0,05$ ). The rate constants of the endogenous turnover of BHB in pregnant sheep were 67 %, those of lactating animals 56 % lower than those of the non pregnant - non lactating animals ( $p < 0,05$ ). The turnover of BHB during the BHB-load was lowest in pregnant ewes, whose values were significantly by 31 % lower than those of non pregnant - non lactating and by 25 % lower than those of the lactating animals. During BHB-load the turnover of BHB was positively correlated ( $r = 0,58$ ) with the concentration of BHB in plasma and was lower in pregnant than in lactating animals. The rate constants of ketone bodies showed significant differences between individuals ( $p < 0,05$ ).

The concentration of calcium in plasma of normocalcemic sheep decreased significantly by 6 % during the continuous BHB-infusion ( $p = 0,0017$ ).

The results demonstrate that ewes can probably not cover their elevated energy demand in late pregnancy by increasing the use of ketone bodies. During late pregnancy lipolytic signals may thus trigger ketonemia without removing the lack of glucose. Some individuals have lesser abilities to metabolize ketone bodies than others and are more liable to develop hyperketonemia. Hyperketonemia decreases hepatic gluconeogenesis, thereby decreases the amount of available glucose and forces the animal into a vicious circle of clinical ketosis. Hypocalcemia, which does occur frequently during late pregnancy, decreases hepatic gluconeogenesis, too and is likely to further promote the development of clinical ketosis.