

ADAPTAÇÃO METABÓLICA EM OVELHAS GESTANTES E NÃO GESTANTES SUBMETIDAS AO TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

PEREIRA, Rubens Alves; SCHMITT, Eduardo; SCHNEIDER, Augusto; DEL PINO, Francisco Augusto Bukert; CORRÊA, Marcio Nunes

*Universidade Federal de Pelotas – Faculdade de Veterinária
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária - NUPEEC*

1 INTRODUÇÃO

A gestação causa diversas alterações no metabolismo materno, elevando em cerca de 75% a demanda nutricional ao seu final. Isso requer adaptações como uma maior ingestão calórica, aumento da resposta secretória de insulina, alterações no metabolismo lipídico e protéico e resistência à insulina em tecidos periféricos (BAUMAN & CURRIE, 1980). Nesta fase, quase 35% da glicose circulante da gestante é destinada à unidade fetoplacentária, conferindo a esta, uma vantagem competitiva na utilização de carboidratos para seu desenvolvimento, em relação à gestante (HAY et al., 1983).

Assim como no metabolismo dos carboidratos a demanda de cálcio (Ca) também atinge o seu pico no final da gestação devido à mineralização do esqueleto fetal, adaptando o metabolismo da gestante (BROMMAGE & DELUCA, 1985). A importância do Ca em funções metabólicas evidencia-se pela sua atuação como segundo mensageiro celular na exocitose do sistema endócrino (OHEIM et al., 2006). Isto determina um sistema rígido de controle na homeostase deste mineral envolvendo o hormônio da paratireóide, a calcitonina e a vitamina D.

Apesar disto, distúrbios como a hipocalcemia têm aumentado nas últimas décadas principalmente em rebanhos leiteiros, pois estão correlacionados ao nível de produção. Alguns autores associam a manifestação desta doença com o balanço energético em ruminantes (SCHLUMBOHM et al., 2003), pois sabe-se que vacas leiteiras com calcemia inferior a 6 mg/dL possuem baixa secreção de insulina, apesar da elevada glicemia (BLUM et al., 1972). Recentemente, com novas técnicas laboratoriais, esta relação tem sido melhor estudada, demonstrando a participação do Ca nas diferentes fases de secreção de insulina pelas células β -pancreáticas, bem como sua participação no metabolismo de carboidratos (RUTTER et al, 2006).

Técnicas como o teste de tolerância à glicose (TTG) são empregadas em ruminantes para determinar a capacidade de metabolização de glicose e a resposta à liberação de insulina, demonstrando diferenças importantes entre gestantes e não gestantes principalmente no terço final de gestação (REGNAULT et al., 2004), além de correlacionar níveis plasmáticos de Ca na gestante com a taxa de metabolização de glicose (SCHLUMBOHM et al., 2003). Baseado nestas evidências, este estudo comparou as taxas de metabolização de glicose, insulina e suas relações com níveis de Ca plasmático em ovelhas gestantes e não gestantes submetidas ao TTG.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O experimento foi realizado junto ao centro experimental de ovinos do Núcleo de Pesquisa Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizadas ovelhas gestantes (entre 98 e 130 dias de gestação) e não

gestantes divididas em dois grupos: Não Gestante (NG, n=8) e Gestante (GG, n=8). Os animais estavam sob mesmo regime alimentar de semiconfinamento, recebendo 1,5% do peso vivo (PV) de concentrado e pastagem de aveia e azevém, 6 horas/dia.

Após jejum de 12 horas, com livre acesso a água, foi realizada uma infusão de uma solução de glicose 50%, na dose de 500 mg/Kg de PV, durante 1 minuto (REGNAULT et al., 2004). Amostras de sangue foram coletadas nos momentos -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos, considerando-se a infusão como o tempo 0. O sangue foi coletado em um tubo com anti-coagulante (EDTA) e fluoreto de potássio, para análise de glicose, e outro sem anticoagulante para doseamento de Ca e insulina. O Ca e a Glicose (Cálcio Liquiform & Glicose PAP Liquiform, Labtest®, Lagoa Santa, Brazil) foram analisados por espectrofotometria e a insulina por eletroquimioluminescência (Kit Roche®), utilizando o Elecsys® Systems 2010.

A área sob a curva (ASC) da glicose e da insulina, seguiram a área do trapézio formado entre duas coletas subsequentes no gráfico, considerando-se as alterações no nível basal de cada indivíduo (Área = (Valor Coleta 1 – Valor Basal + Valor Coleta 2 – Valor Basal)*Intervalo entre coletas/2) (REGNAULT et al., 2004).

Os resultados foram analisados pelo Software SAS® (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA), através da análise de variância por medidas repetidas. Avaliou-se também os níveis de Glicose, cálcio e Insulina comparando-se os tratamentos, interação tempo e tratamento, e realizado o teste de correlação de Pearson. O nível de significância quando $P < 0,05$ e as médias foram comparadas através do teste de Tukey-Kramer.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os níveis de Ca plasmático (Figura 1) não diferiu entre ovelhas gestantes e não gestantes, apresentando valores dentro dos padrões de referência de 8,5 e 12,5 mg/dL para espécie (WATT, 2006), mas discordam de estudos que apontam menores níveis em animais gestantes (ROUBIES, 2006). Em ambos os grupos a calcemia variou durante as coletas ($P < 0,001$), obedecendo o padrão de regulação simultâneo exercido pelos hormônios da paratireóide, calcitonina e vitamina D (KOVACS et al., 1997). Foi encontrada uma correlação negativa que entre Ca e insulina. Em humanos a excreção renal de cálcio é aumentada pela infusão de insulina e na *Diabetes Mellitus* tipo II, não insulino-dependentes (LEE, et al. 2006). Em gestantes no terço final de gestação há um aumento da filtração glomerular, o qual, somado ao aumento da resistência à insulina, poderia servir como um fator predisponente à hipocalcemia. Com estes achados poderíamos sugerir que animais com maior resistência a insulina no pré-parto seriam mais suscetíveis à hipocalcemia pelas perdas na excreção renal, fato comum em animais de alta produção e obesos com diabetes tipo II no pré-parto.

Os níveis glicêmicos (Figura 1) no início do tratamento (-15min) estavam dentro dos padrões fisiológicos em ambos os grupos (WILLIAMS, et al., 2004). O grupo GG teve um padrão de desaparecimento da glicose menor ($P < 0,001$) que o grupo NG (segundo ASC) (Figura 1) e demonstraram uma menor capacidade de metabolização da glicose no terço final de gestação possivelmente devido a uma maior resistência à insulina nos tecidos periféricos. Apesar disto, a grande variação entre os animais, possivelmente se deva a fatores individuais, os quais podem ser explicados pelos fatores epigenéticos regidos pelo ambiente uterino durante a vida fetal, que determinam a programação celular e influenciam o metabolismo energético na vida adulta compondo importantes diferenças entre indivíduos

(HUSTED et al., 2008). A secreção de insulina e a responsividade dos tecidos periféricos já é determinada na vida fetal de acordo com aporte nutricional que as células β -pancreáticas e os tecidos periféricos são expostos (SINCLAIR et al., 2007).

Embora não tenha havido diferença nos níveis de insulina (Figura 1), foi analisado isoladamente cada grupo e observou-se que o padrão de secreção de insulina entre coletas no grupo NG retornou ao padrão basal aos 180 min. Já no grupo GG, após a aplicação de glicose houve elevação da insulinemia, mas sem o retorno ao padrão basal em 180 min, corroborando com os achados de Schlumbohm et al. (2003), que observaram um menor aumento nos níveis de insulina em resposta a uma carga de glicose nas ovelhas no terço final de gestação. Conforme a gestação avança, a insulinemia materna é reduzida significativamente, assim como sua resposta a uma carga de glicose (VAN DER WALT et al., 1980).

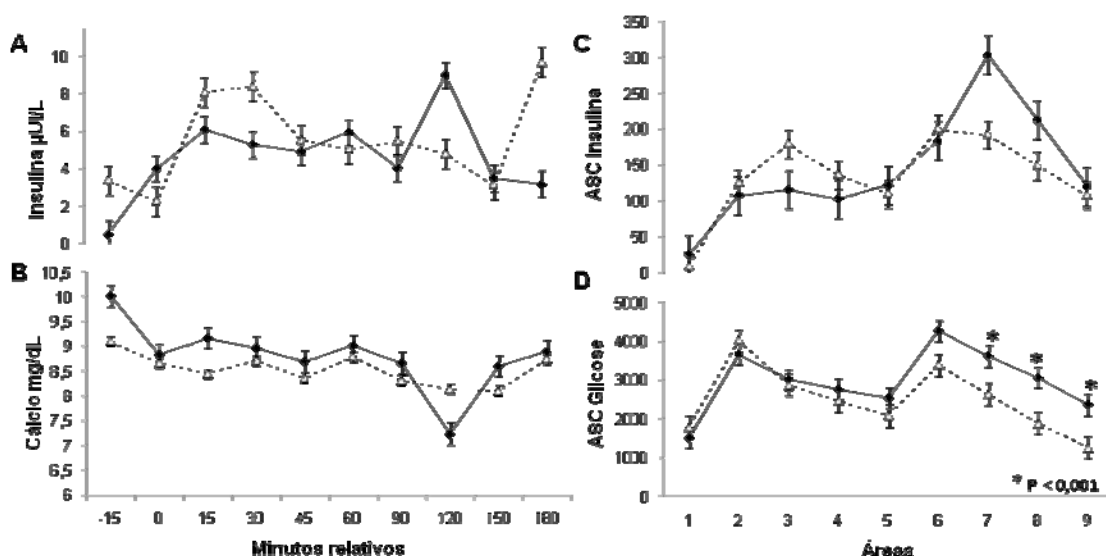


Figura 1. Níveis sanguíneos de insulina (A) ($\mu\text{U.dL}^{-1}$), cálcio total (B) (mg.dL^{-1}), AUC Insulina (C) (mg/dL) e AUC Glicose (D) (mg/dL) de ovelhas gestantes ($\text{---}\square\text{---}$) e não gestantes ($\text{---}\triangle\text{---}$), submetidas ao teste de tolerância à glicose.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os achados deste estudo, ovelhas gestantes apresentaram uma menor taxa de metabolização de glicose. Apesar de não diferirem das não gestantes quanto aos níveis de insulina, este hormônio aparentemente exerce uma importante influência sobre as concentrações séricas de cálcio durante a gestação.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUMAN DE.; CURRIE WB. Partitioning of Nutrients During Pregnancy and Lactation: A Review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p.1514-1529, 1980.

BLUM, J.W. et al. Plasma insulin concentrations in parturient cows. **J Dairy Sci**, v. 56, p. 459-464, 1972.

BROMMAGE, R.; DELUCA, HF. Regulation of bone mineral loss during lactation. **Am J Physiol**, v. 248, p. E182-7, 1985.

KOVACS, CS.; KRONENBERG, HM. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium, and lactation. **End Rev**, v. 18(6), p.832–872, 1997.

HAY, W. W. et al. Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. **Am J Physiol.**, v. 245, p.E347–E350, 1983.

HUSTED, S.M. et al. Glucose homeostasis and metabolic adaptation in the pregnant and lactating sheep are affected by the level of nutrition previously provided during her late fetal life. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, 4, p. 419-431, 2008.

Lee DH. et al. A strong dose-response relation between serum concentrations of persistent organic pollutants and diabetes *Diabetes Care* 29:1638–1644; 2006.

OHEIM, M. et al. Calcium microdomains in regulated exocytosis. **Cell Calcium**, v.40, p. 423–439, 2006.

REGNAULT, T. R. H. et al. Glucose-stimulated insulin response in pregnant sheep following acute suppression of plasma non-esterified fatty acid concentrations. **Rep Biol End**, v. 2, p.64, 2004.

ROUBIES, N. et al. Effects of age and reproductive stage on certain serum biochemical parameters of Chios sheep under Greek rearing conditions. *J. Vet. Med. A.* 53:277-281, 2006.

RUTTER, G.A. et al. Ca²⁺ microdomains and the control of insulin secretion. **Cell Calcium**, v.40, p. 539–551, 2006.

SCHLUMBOHM, C. et al. The influence of insulin on metabolism of glucose, free fatty acids and glycerol in normo- and hypocalcemic ewes during different reproductive states. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 104(9), p.359-365, 1997.

SCHLUMBOHM, C.; HARMEYER, J. Hypocalcemia reduces endogenous glucose production in hyperketonemic sheep. **J Dairy Sci.**, v. 86, p.1953–1962, 2003.

SINCLAIR, K.D. et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. **PNAS**, December 4, v. 104, n. 49, p. 19351–19356, 2007.

VAN DER WALT, J.G. et al. Glucose turnover, tolerance and insulin response in wethers, ewes and pregnant ewes in the fed and fasted state. **Onderstepoort Journal Veterinary Research.**, v. 47, p.173-178, 1980.

WATT B.R. Hypocalcaemia in lactating drought fed ewes supplemented with recommended levels of calcium. **Australian journal of Experimental Agriculture**, v.46, p.6-7, 2006.

WILLIAMS, C.C. et al. Glucose metabolism and insulin sensitivity in Gulf Coast Native and Suffolk ewes during late gestation and early lactation. **Small Ruminant Research**, v.54, p. 167–171, 2004.