

DETERMINACIÓN DE CUERPOS CETÓNICOS EN ORINA COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO PRECOZ PARA LA PREVENCIÓN DE LA TOXEMIA DE LA GESTACIÓN EN OVEJAS

Julio Silva (M.V.)*, Martín Ruiz Moreno (M.V.)**, Edgardo Rodríguez (M.V.)***

EARLY DIAGNOSTIC OF THE PREGNANCY TOXAEMIA IN SHEEP BY URINARY KETONE BODIES ASSAY

Variations in the plasmatic levels of β -OH Butirate and Glucaemia, and its relation with the urinary concentrations of ketone bodies, were investigated in two groups (single and double gestation) of 10 pregnant sheep each. Thirty days after the hypoglucaemia the β -OH Butirate concentrations increased, and decreased 30 days after glucaemia normalization. In both experimental groups, the urinary ketone body concentrations increased 30 days before the β -OH Butirate peak, and return to normal values at the same time than plasmatic β -OH Butirate. Both the urinary and plasmatic variations of ketone bodies, were higher in the twin group than in the single foetus group. The urinary ketone bodies assay by strips, is a good diagnosis method to prevent the pregnancy toxaemia in sheep. The critical urinary ketone bodies level, maybe between 8 - 10 mg%.

Palabras clave: cuerpos cetónicos en orina, diagnóstico precoz, toxemia de la gestación, ovejas.

Key words: urinary ketone bodies, early diagnostic, pregnancy toxaemia, sheep.

INTRODUCCIÓN

La Toxemia de la Gestación en las ovejas es un trastorno metabólico que en determinadas circunstancias puede ocasionar ingentes pérdidas en las majadas (Blood y col., 1988).

Esta enfermedad se presenta, usualmente en el último mes y medio de la gestación, debido a que éste es un momento de elevada demanda de glucosa, y a que ella es necesaria como fuente de energía para la placenta y el feto (Aroiera, 1983).

Kronfeld (1972), demostró que la pérdida de glucosa por vía fetal se incrementa en forma aguda al final de la gestación, a un ritmo aproximado de 32 g/día. Este escape se eleva en forma paralela, pero no lineal, con el número de fetos.

Así, la gestación de un cordero implica un aumento del orden 10,7% en el valor del metabolismo basal respecto de una oveja no gestante, mientras que dicho valor llega a 17,1% cuando se trata de una gestación doble (Payne, 1981). El "pool" intercambiable de

glucosa, evaluado mediante técnicas de dilución de radioisótopos, sólo presenta entre 142 y 162 mg/kg para una oveja adulta. Se ha calculado que diariamente se transfiere al feto un volumen cuatro veces mayor que dicho pool (Brickhardt y König, 1985).

En la oveja gestante, el útero y su contenido remueven de la circulación entre un 60 y un 70% de la glucosa circulante. Esto se considera un "lavado fetal" de glucosa, es decir, remoción no retornable de sustratos, a través de un proceso no dependiente de los reducidos niveles de la glucemia materna.

Varios factores pueden determinar una disminución en la ingesta de energía durante la preñez tardía. Aun cuando esté disponible una adecuada disponibilidad de alimento, aquellas ovejas que estén gestando mellizos tendrán una merma en el apetito. Tal situación estará determinada por una disminución de la capacidad del rumen, motivada por el útero gestante y la grasa intraabdominal (Allison, 1985).

La demanda aumentada de energía y la menor capacidad de ingestión de alimento, especialmente en las ovejas melliceras, pone en marcha un mecanismo de adaptación liderado por hormonas hiperglucemiantes (Glucagón, Epinefrina, ACTH, TSH, etc.), las que se unirán a receptores de los adipositos. Así, a través de una cascada enzimática que terminará con la activación de una Lipasa Hormonosensible, inducirán la lipólisis y la liberación de Ácidos Grasos Libres (AGL) y Glicerol a sangre. Estos AGL, unidos a una Albúmina plasmáti-

Área de Fisiología de la Nutrición, Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro, Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco (7000) Tandil, Argentina.

*Profesor Adjunto Ordinario con dedicación exclusiva.

**Auxiliar Docente.

***Jefe de Trabajos Prácticos con dedicación exclusiva. Área de Bioestadística.

ca, serán transportados a distintos tejidos para su utilización como fuente alternativa de energía a través de la β -oxidación (Cingolani y Houssay, 1989).

La hiperglucagonemia, acompañada de hipoinsulinemia, se presenta durante las últimas etapas de la gestación y principio de la lactancia. Esta relación hormonal se acompaña con una disminución de la concentración de Malonil-CoA en el hígado, lo cual permite una mayor oxidación de los AGL (Cingolani y Houssay, 1989). Este hecho, sumado a un aporte incrementado de los AGL, explica por qué en el período peripartal se incrementa la cetogénesis, aun en condiciones normales de alimentación (Aroiera, 1983).

El ácido propiónico inhibe la oxidación de los ácidos grasos por la formación de un aducto afuncional entre el FAD y la acil-CoA graso Deshidrogenasa, es decir que, ante una deficiencia de ácido propiónico por escaso aporte energético de la dieta, aumenta la oxidación de los AGL en el hepatocito (Wastney y col., 1983).

Además, la menor disponibilidad de ácido propiónico determinará una disminución de ácido oxalacético, lo que llevará a una cada vez mayor producción de Acetoacetil-CoA, con el consiguiente aumento de Acetoacetato (Riis, 1983).

El hígado no posee la enzima 3-oxoácido-CoA-transferasa, enzima que transfiere la CoA del Succinil-CoA para la activación del Acetoacetato y su posterior oxidación. Debido a esto, el Acetoacetato es volcado a la sangre por donde viaja a otros tejidos que sí lo pueden utilizar (Cingolani y Houssay, 1989).

Según Riis (1983) y Aroiera (1983), la aparición de Cuerpos Cetónicos en orina comenzaría cuando se satura la capacidad de su utilización por los tejidos periféricos.

Un aspecto a considerar es el diagnóstico precoz de esta enfermedad con vistas a poder implementar con la debida antelación, medidas de prevención que eviten su aparición en los rebaños.

El propósito del presente trabajo fue, en primera instancia, determinar si la presencia de cuerpos cetónicos en orina guarda relación con las variaciones de los niveles de éstos en sangre, para luego:

- dilucidar si el aumento de cuerpos cetónicos en orina es lo suficientemente precoz.
- discernir cuál sería el nivel crítico de cuerpos cetónicos en orina que pudiera considerarse como señal de riesgo de la aparición de la enfermedad en la majada.
- evaluar si el uso de tiras reactivas resulta un método sencillo, práctico y confiable para la prevención a campo de esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

Se trabajó con 20 hembras ovinas de raza Corriedale, con un peso promedio de 45 kg, seleccionadas si-

guiendo la técnica de muestreo dirigido. Se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno, grupo A de gestación simple y grupo V de gestación doble. El diagnóstico del tipo de gestación se efectuó mediante ecografía transrectal, realizada al mes y medio de preñez.

Al inicio de la experiencia las ovejas tenían un tiempo promedio de gestación de 4,5 meses.

Los animales permanecieron durante todo el ensayo sobre campo natural, de regular condición y con escasa oferta forrajera.

2. Toma de Muestras

Se realizaron cinco muestreos, a intervalos mensuales, entre los meses de marzo y agosto.

Cada muestreo incluyó:

- la recolección de sangre por punción de vena yugular, usando Fluoruro de Sodio como anticoagulante.
- la obtención de orina mediante la técnica de apnea transitoria.

3. Determinaciones y técnicas analíticas

En Sangre:

GLUCOSA: Método de la Glucosa Oxidasa (GT Lab).

β -OH BUTIRATO: Método de Williamson modificado (SIGMA).

En Orina:

CUERPOS CETÓNICOS (semicuantitativo): Nitroprusiato (Ketodiastix).

4. Acondicionamiento de las muestras

Las muestras de sangre se acondicionaron de la siguiente manera:

- inmediatamente de extraída, se le agregó a cada tubo 2 gotas de vaselina líquida a fin de evitar la pérdida de β -OH Butirato por volatilización.
- luego, los tubos se colocaron, tapados, en conservadora de telgopor con hielo, para su posterior traslado.

Las muestras de orina fueron evaluadas "in situ" mediante el uso de las tiras reactivas (Ketodiastix).

5. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el procedimiento PROC GLM del SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 1, y en las Figuras 1, 2 y 3.

CUADRO I
VALORES SÉRICOS Y URINARIOS OBTENIDOS EN AMBOS GRUPOS
DURANTE EL ENSAYO ($\bar{x} \pm E.E.$)

Muestreo	Grupo	Glucemia (*)	β OH Butirato (*)	Cuerpos Cetónicos (*)
1	A	52.75 \pm 4.14	4.62 \pm 0.88	0 \pm 0
	V	46.30 \pm 4.82	6.36 \pm 1.08	0 \pm 0
2	A	64.12 \pm 6.48	7.33 \pm 0.82	0 \pm 0
	V	44.69 \pm 6.62	6.26 \pm 1.26	1.50 \pm 1.50
3	A	42.67 \pm 3.97	7.87 \pm 1.87	4.00 \pm 1.94
	V	34.67 \pm 2.23	2.79 \pm 0.70	6.50 \pm 3.80
4	A	57.86 \pm 6.41	10.00 \pm 1.47	10.00 \pm 5.06
	V	53.15 \pm 6.50	18.50 \pm 1.77	24.00 \pm 8.12
5	A	60.44 \pm 4.47	2.07 \pm 0.61	1.50 \pm 0.76
	V	56.52 \pm 5.43	1.68 \pm 0.55	3.00 \pm 0.82

(*): expresado en mg/dl.

Siguiendo la evolución de la Glucemia en los dos lotes de ovejas, es posible comprobar que su comportamiento a lo largo del tiempo es similar para ambos grupos ($P = 0.571$), observándose un descenso de la misma en el muestreo 3 respecto del muestreo 2 ($P = 0.0033$).

Este descenso coincide con una restricción alimentaria determinada por el anegamiento del potrero donde se encontraban los animales, luego de un fuerte temporal de lluvias que duró aproximadamente 12 días durante el mes que precedió al muestreo 3.

Respecto de los niveles plasmáticos del β -OH Butirato, se observa que, en ambos grupos, su aumento como consecuencia de la restricción alimentaria es posterior a la hipoglucemia, alcanzándose el pico máximo en el muestreo 4, es decir, un mes después del descenso de la Glucemia, siendo mayor este pico para el lote de Melliceras ($P = 0.0037$).

En cuanto a los Cuerpos Cetónicos Urinarios, es dable observar que comienzan a aumentar antes (Muestreo 3) de que se manifieste el pico máximo del β -OH Butirato plasmático (Muestreo 4), aunque su excreción urinaria máxima coincide con el pico de éste en el Muestreo 4, siendo mayor la concentración

de aquéllos en el lote V (gestación doble) respecto del lote A (gestación simple).

Tanto los niveles plasmáticos de β -OH Butirato como urinarios de Cuerpos Cetónicos vuelven a la normalidad en el Muestreo 5, es decir 30 días después de la normalización de la Glucemia.

Teniendo en cuenta que ambos grupos (A y V) recibían la misma alimentación, se aprecia que el comportamiento de cada uno es distinto según los requerimientos. En el caso de las ovejas con gestación simple, el aumento máximo de los cuerpos cetónicos tanto en plasma como en orina, en el Muestreo 4, no supera los 10 mg%. Piatkowski (1982) señala que valores superiores a 10 mg% de cuerpos cetónicos en sangre indican perturbaciones en el metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos.

Para las ovejas con gestación doble, es dable observar un incremento de cuerpos cetónicos mayor: el β -OH Butirato plasmático en el muestreo 4 alcanza un nivel promedio de 18.5 mg%, llegando los Cuerpos Cetónicos urinarios a valores de 24 mg%, en ese mismo muestreo.

Cabe aclarar que los valores de cuerpos cetónicos en orina son aproximados, dado que las tiras reactivas son semicuantitativas.

Sin duda, dependerá del régimen alimentario y del nivel de requerimientos de los animales en estudio la evolución posterior de estos niveles. Si asumimos que en la práctica diaria los animales susceptibles de contraer la enfermedad generalmente están en condiciones precarias de alimentación, lo más probable es que ante valores como los señalados anteriormente para las ovejas melliceras, de persistir el déficit energético, los mismos continuarían en aumento desencadenándose una Cetosis con la consiguiente Toxemia.

Es posible que en esta experiencia, de no haberse normalizado la alimentación, en el lote de ovejas melliceras se hubiera presentado clínicamente la enfermedad. Un dato interesante es que en este lote hubo un alto porcentaje de mortalidad de corderos durante el primer mes de nacidos. Quizás esta alta tasa de

Figura 1: Variaciones a lo largo del tiempo de los niveles de glucemia (AGLUC, VGLUC) y β -OH butirato plasmático (A β OHB, V β OHB), grupo A (gestación simple), y grupo V (gestación doble).

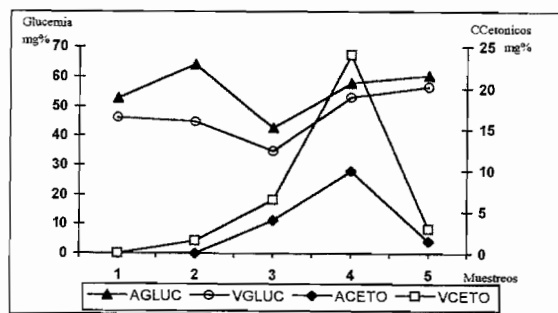


Figura 2: Variaciones a lo largo del tiempo de los niveles de cuerpos cetónicos en orina (CETO) en relación con el β OH butirato plasmático (β OHB) para los dos lotes de ovejas (A y V) en conjunto (a); para el lote A (b) y para el lote V (c), por separado.

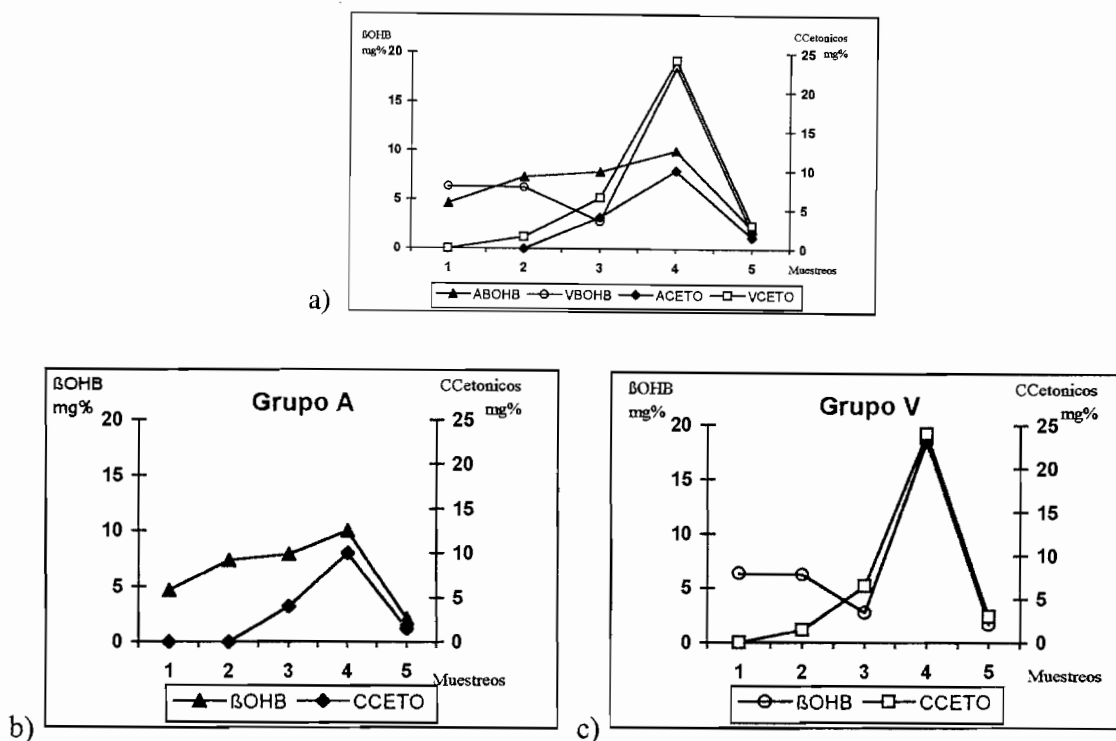
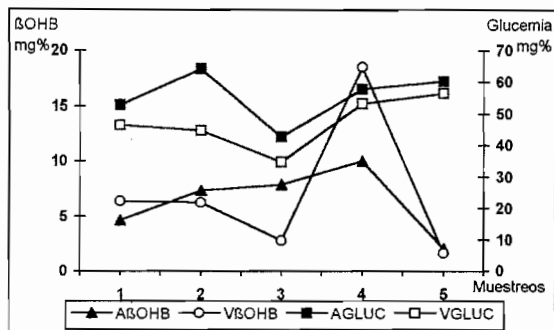


Figura 3: Variaciones a lo largo del tiempo de los niveles de cuerpos cetónicos en orina (CETO) y su relación con la glucemia (GLUC) en el grupo A (gestación simple) y grupo V (gestación doble).



mortalidad se haya debido a una escasa producción de leche de las madres, motivada por el estado metabólico con el que las mismas llegaron al parto.

Teniendo en cuenta que la aparición de los Cuerpos Cetónicos en orina antecede unos 30 días al pico del β -OH Butirato plasmático, la determinación rutinaria de éstos mediante tiras reactivas resulta una práctica sencilla y aconsejable para prevenir la aparición de la Toxemia de la Gestación en una majada.

Quedaría por discernir cuál sería el nivel crítico o de alarma de estos Cuerpos Cetónicos en orina que

indique el riesgo de aparición de Toxemia de la Gestación.

Considerando la evolución de los valores de β -OH Butirato plasmático y de Cuerpos Cetónicos urinarios a lo largo del tiempo, es posible que este nivel se ubique entre los 8 y 10 mg%.

RESUMEN

En dos grupos (gestación simple y doble) de 10 ovejas preñadas cada uno, se investigó las variaciones de los niveles plasmáticos de Glucosa y β -OH Butirato, relacionándolas con los valores de cuerpos cetónicos en orina. En ambos grupos, el β -OH Butirato plasmático se elevó 30 días después de la hipoglucemia, disminuyendo 30 días luego de la normalización de la glucemia. Los cuerpos cetónicos urinarios comenzaron a aumentar 30 días antes que el β -OH Butirato plasmático, retornando a los valores normales al mismo tiempo que éste. Las variaciones de los parámetros analizados, tanto plasmáticos como urinarios, fueron mayores en el grupo de ovejas melliceras que en el grupo de gestación simple. El uso de tiras reactivas para el análisis de cuerpos cetónicos en orina, resulta un método sencillo y práctico para prevenir la Toxemia de la Gestación en ovejas. El nivel crítico o de alarma de Cuerpos Cetónicos en orina para implementar medidas de corrección sería de 8-10 mg%.

REFERENCIAS

- ALLISON, C.D. 1985. Factors affecting forage intake by range ruminants: a review. *J. of Range Manag.* 38: 4, 305-311.
- AROIERA, L. 1983. Influence de la disponibilité en composés gluciformateurs sur la regulation de la neoglucogenese et de la glucogenese chez los ovins. These. Université de Clermont, France.
- BICKHARDT, K.; KONIG, G. 1985. Blood values of healthy Merino, Landrace and German Blackhead Mutton ewes, before and after parturition (reference values). Hannover, German Federal Republic. 92: 9, 319-322.
- BLOOD, D.C.; HENDERSON, J.A.; RADOSTITS, O.M. 1988. *Medicina Veterinaria*. 6ª ed. Buenos Aires. Ed. Nueva Editorial Sudamericana.
- CINGOLANI, H.E.; HOUSSAY, A.B. 1989. *Fisiología Humana*, Tomo III, 6ª ed. Buenos Aires Ed. El Ateneo.
- EMERY, S.R.; LIESMAN, J.S.; HERDT, T.H. 1992. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. Conference: Hepatic Metabolism of Organic Acids in Ruminant. *J. of Nutr.* 122: 832-837.
- GIL, E. 1993. Bovine Ketosis and Pregnancy Toxemia. EEA INTA, Balcarce. Argentina.
- KRONFELD, D.S. 1972. Ketosis in pregnant sheep and lactating cow. A review. *Aust. Vet. J.* 48: 12, 680-687.
- PAYNE, J.M. 1981. Enfermedades metabólicas de los animales zootécnicos. Zaragoza. Ed. Acribia.
- PIATKOWSKI, B. 1975. El aprovechamiento de los nutrientes en el rumiante. Buenos Aires. Ed. Hemisferio Sur.
- RHS, P.M. 1983. Dynamic biochemistry of animal production. Elsevier Ed.
- SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide 1989, Version 6, Fourth Edition, Volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc., 846 pp.
- WASTNEY, M.E.; WOLFF, J.E.; BICKERSTAFFE, R. 1983. Effect of starvation on blood metabolites in pregnant sheep. *Aust. J. of Biol. Sci.* 36: 3, 271-284.