RESPUESTA A ENSAYOS DE TOLERANCIA A GLUCOSA Y RETOS DE INSULINA EN DROMEDARIOS JÓVENES DURANTE EL PERIODO DE CRÍA

Díaz-Medina[1,2], E., Caja[1], G., Salama[1], A.A.K., Cabrera[2], S., Alshaikh[3], M., Ayadi[3], M., Aljumaah[3], R. y Rovai[4], M.

[1]Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departamento de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España. [2]Oasis Park, La Lajita, Fuerteventura, Las Palmas de Gran Canaria, España. [3]Department of Animal Production, College of Food and Agriculture Sciences, King Saud University, Riyadh, Arabia Saudi. [4]Department of Dairy Science and Food Science, South Dakota State University, Brookings, South Dakota, EE. UU. diazmedinaelena@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los dromedarios (*Camelus dromedarius* L.) son pseudo-rumiantes que, a pesar de fermentar los carbohidratos en el estómago C1 como verdaderos rumiantes, mantienen en sangre niveles basales de glucosa que duplican los de éstos (Wernery et al., 1999; Cebra et al., 2014), mientras que los niveles de insulina son aproximadamente la mitad (Elmahdi et al., 1997; Kaske et al., 2001). Estas condiciones indican un estado natural de "pseudo-diabetes". Existe poca información que permita explicar el particular metabolismo de la glucosa en camélidos. Entre los posibles mecanismos (Cebra et al., 2001) están: el uso de vías alternativas de absorción de glucosa en el intestino, gluconeogénesis aumentada y/o una mala absorción de glucosa por los tejidos, entre otras. Hay que destacar además que, tanto en pseudo-rumiantes como en rumiantes, existen diferencias en el metabolismo de la glucosa entre lactantes y adultos. Esto se debe a que, en los lactantes, los carbohidratos de la leche (e.g., lactosa) escapan de la fermentación ruminal por la gotera esofágica y se absorben como glucosa en el intestino.

El estudio del metabolismo de la glucosa se realiza mediante ensayos de tolerancia a la glucosa y retos de insulina. Aunque esta metodología ha sido utilizada en rumiantes lactantes y adultos, en el caso de los camélidos sólo se dispone de datos en camélidos americanos jóvenes y adultos (Cebra et al., 2014) y en dromedarios adultos (Elmahdi et al., 1997). El objetivo del presente estudio es caracterizar la respuesta metabólica a ensayos de glucosa e insulina en dromedarios lactantes de distintas edades para averiguar si el estado de "pseudo-diabetes" es innato o adquirido.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y manejo: Se utilizaron 10 dromedarios lactantes (5 machos y 5 hembras) que se asignaron a 2 grupos experimentales (A y B) según edad (A, 15 ± 3 d; B, 132 ± 19 d) peso vivo (A, 39,.7 ± 1,8 kg; B, 115,2 ± 5,8 kg) y sexo (A, 2 machos y 3 hembras; B, 3 machos y 2 hembras). A todos ellos se les implantó en yugular, el día anterior a iniciar el estudio y bajo sedación (0,1 mg/kg BW maleato de acepromacina; Calmo Neosan inyectable 0,5 g/100 mL, Labiana Life Sciences, Terrassa, España), un catéter de silicona (Nutricath S, 60 cm, 14-gauge, Vygon, Ecouen, Francia). Durante el experimento, las crías de dromedario se separaron de sus madres la noche anterior (12 h) y se alojaron por parejas en boxes (2 ×1,2 m), a fin de facilitar su manipulación y reducir su estrés.

Ensayos GTT e IC: El orden de realización de los ensayos se asignó al azar y se dejó 1 d como recuperación. Las dosis de glucosa e insulina administradas en yugular por el catéter fueron: 0,25 g/kg PV de D-(+)-glucosa (Sigma-Aldrich Life Science, St. Louis, MO, EE. UU.), en solución salina al 0,9% de 0,25 g/mL, y 4,6 µg insulina/kg PV (extracto de páncreas bovino y ovino; Sigma-Aldrich Life Science), en solución salina al 0,9% de 0,248 mg/ml. Las muestras de sangre se tomaron usando jeringas de plástico (5 ml) a 12 tiempos (−15, −5, 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 min) y se transfirieron a tubos de heparina de sodio (BD Vacutainer 10 ml, Belliver Industrial Estate, Plymouth, R.U.) mantenidas en hielo hasta su centrifugación (1500×*g,* 15 min; Microcen, Orto Alresa, Ajalvir) para obtener plasma. El plasma se almacenó (−20°C) por triplicado hasta su análisis de glucosa, ácidos grasos no esterificados y β-hidroxi-butirato (espectrofotometría) e insulina (immunoensayo ELISA). A partir de los basales de glucosa, insulina y ácidos grasos no esterificados determinados se calcularon los índices de sensibilidad a la insulina: QUICKI (Katz et al., 2000), RQUICKI (Perseghin et al., 2001) y HOMA (Matthews et al., 1985).

Análisis estadístico: Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED para medidas repetidas de SAS versión 9.1.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo de tolerancia a la lactosa, los valores basales de glucosa fueron elevados y aumentaron según la edad (A vs. B, 121 ± 7 vs. 147 ± 7 mg/100 ml; *P* = 0,02). La infusión de glucosa, causó un aumento marcado de glucosa en plasma, que alcanzó su máximo a 5 min (A vs. B, 241 ± 9 vs. 284 ± 9 mg/100 ml; *P* = 0,002) y no regresó a los valores basales a final del ensayo en ninguno de los grupos (Figura 1). Los niveles basales de insulina fueron bajos y similares entre edades (0,14 ± 0,03 ng/ml; *P* = 0,35) y aumentaron también tras la infusión de glucosa, con un máximo al min 5 y una marcada diferencia (68%) entre grupos (A vs B, 1,24 ± 0,12 vs. 0,39 ± 0,12 ng/ml; *P* < 0,001). Después del máximo, hubo una rápida disminución de insulina en ambos grupos, que se aproximó a los valores basales a partir del min 20. La media de insulina no varió entre edades. Los valores basales de ácidos grasos no esterificados fueron muy altos y similares entre edades (0,68 ± 0,12 mmol/l; *P* = 0,65), posiblemente como consecuencia del ayuno de la noche anterior, pero disminuyeron tras la infusión de glucosa.

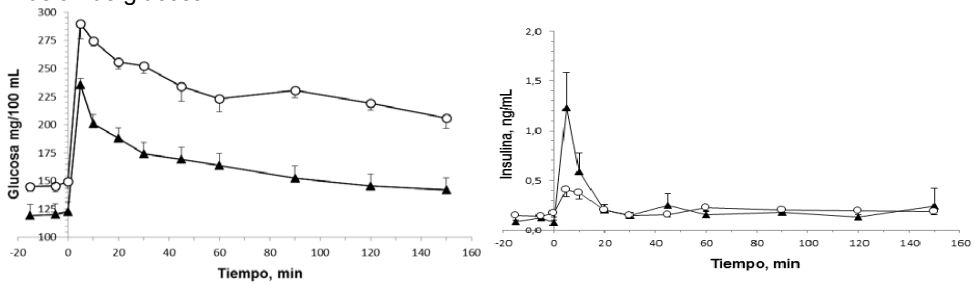


Figura 1. *Concentraciones de glucosa e insulina en plasma durante el ensayo de tolerancia a la glucosa (0,25 g/kg PV) en dromedarios lactantes de diferentes edades (▲, 15 d y 40 kg PV; ○, 132 d y 115 kg PV). Las barras verticales indican el error estándar.*

Con respecto a reto de insulina, la infusión de insulina produjo una disminución paralela de glucosa en ambos grupos hasta el min 90, indicando una similar sensibilidad a la insulina, sin retornar a los valores basales al final del reto (Figura 2). La concentración de insulina aumentó rápidamente tras la infusión, alcanzando en ambos grupos un máximo en el min 5, que fue superior (77%) en los dromedarios de mayor edad (A vs. B, 60,0 ± 28,0 vs. 256,0 ± 61,7 ng/ml; *P* < 0,001). Tras el máximo, la insulina disminuyó rápidamente en ambos grupos de edad, alcanzando valores similares a los de la línea de base a partir del min 20.

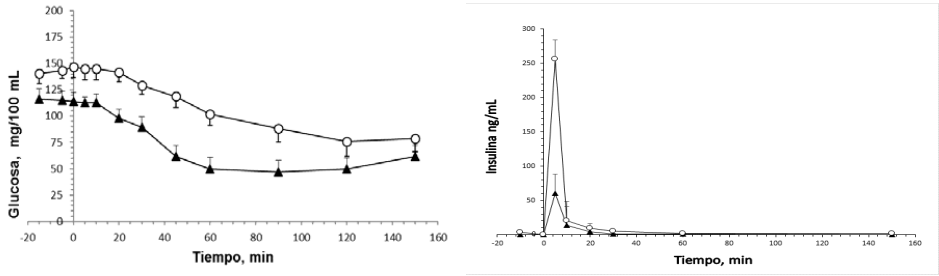


Figura 2. *Concentraciones de glucosa e insulina en plasma durante el reto de insulina (4,6 µg insulina/kg PV) en dromedarios lactantes de diferentes edades (▲, 15 d y 40 kg PV; ○, 132 d y 115 kg PV). Las barras verticales indican el error estándar.*

Tras la infusión de insulina, los niveles de ácidos grasos no esterificados disminuyeron de manera similar en ambos grupos de edad durante los primeros 20 min, para posteriormente producirse un aumento rápido en los dromedarios más jóvenes (A, 0,950 ± 0,091 mmol/l; *P* = 0,56 a 0,96), mientras que los mayores (B) retornaron a niveles basales. Los valores basales

de BHB fueron muy bajos y diferentes entre grupos (A vs. B, 0,029 ± 0,004 vs. 0,016 ± 0,004 mmol/l; *P* = 0,045) y los niveles de β-hidroxi-butirato disminuyeron en ambos grupos tras la infusión de insulina, retornando a sus valores basales a partir del min 30.
La edad de los dromedarios afectó a los índices QUICKI (*P* = 0,02) y HOMA (*P* = 0,04), pero no al RQUICKI (*P* = 0,16). Los bajos valores de QUICKI y altos de HOMA en los dromedarios de mayor edad (B) fueron indicativos de su mayor resistencia a la insulina.
En conclusión, los resultados obtenidos indicaron que los dromedarios lactantes adquieren un estado natural de hiperglucemia e insulino-resistencia, similar a una "pseudo-diabetes" después del nacimiento y que aumenta con la edad. Así mismo se confirma la disminución de su tolerancia a la glucosa y de su capacidad de secreción de insulina con la edad, lo que evidencia el uso de transportadores de glucosa independientes de la insulina junto con una baja utilización de los ácidos grasos libres procedentes de la movilización de las reservas de grasa. Estos mecanismos parecen estar relacionados con la conservación de agua y energía en condiciones de subnutrición y estrés por calor. Los camellos son una especie de especial interés como modelo animal en el estudio experimental de la diabetes.

Agradecimientos: Éste experimento fue financiado parcialmente por el Strategic Technology Program of the National Science, Technology and Innovation Plan (NPST; project 13-AGR1159-02) de Arabia Saudí y realizado en el marco del convenio entre UAB-OP-KSU (Universitat Autònoma de Barcelona-Oasis Park-King Saud University).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Cebra, C.K., et al. 2014. Chapter 41. Hepatic, pancreatic, and metabolic disorders in Llama and Alpaca Care. Elsevier • Cebra, C.K., et al. 2001. J. Am. Vet. Res. 62: 682–686 • Elmahdi, B., et al. 1997. Comp. Biochem. Physiol. 118A: 147–151 • Kaske, M., et al. 2001. J. Comp. Physiol. B 171: 549–546 • Katz, A., et al. 2000. J. Clin. Endocrinol. Metab. 85: 2402–2410 • Matthews, D.R., et al. 1985. Diabetologia 28: 412–419 • Perseghin, G., et al. 2001. J. Clin. Endocrinol. Metab. 86: 4776–4781 • Wernery, U., et al. 1999. Color Atlas of Camelid Hematology. Blackwell Wissenschafts-Verlag.

RESPONSE TO GLUCOSE TOLERANCE TESTS AND INSULIN CHALLENGES OF YOUNG DROMEDARIES DURING THE SUCKLING PERIOD

ABSTRACT: Ten suckling dromedary camels were allocated into 2 experimental groups (A y B), according to age (A, 15 ± 3 d; B, 132 ± 19 d), weight (A, 39.7 ± 1.8 kg BW; B, 115.2 ± 5.8 kg BW) and gender (A, 2 males and 3 females; B, 3 males and 2 females). They were catheterized in the jugular vein and submitted to glucose tolerance test (0.25 g/kg BW of glucose) and insulin challenges (4.6 µg insulin/kg BW). Blood samples were collected at 12 time-points (min −15, −5, 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 and 150) in regard to glucose and insulin administration. Plasma samples were analyzed for glucose, insulin, non-esterified fatty acids (NEFA) and β-hydroxy-burytate (BHB). Surrogate insulin sensitivity indices QUICKI, RQUICKI and HOMA were determined from basal values of glucose, insulin and NEFA during the glucose tolerance test. The results indicated in suckling dromedaries, a natural state of hyperglycemia and an increase in insulin resistance with age, while decreasing their tolerance to glucose, insulin secretion and insulin sensitivity, with reduced signs of use of free fatty acids (NEFA) from fat mobilization.

Keywords: camel, glucose, insulin, hormonal challenge