

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL TRANSPORTE PLASMÁTICO DEL COLESTEROL EN EL PERRO

Autor: Barrera, R.; Mañé, M.C.; Rodríguez, I.; Benito, M.; Andrés, S.; Jiménez, A.; Zaragoza, C.

Dirección: Departamento de Medicina y Sanidad Animal. Universidad de Extremadura. Carretera de Trujillo s/n - 10071 CÁCERES

Palabras clave: colesterol, lipoproteínas, suero.

RESUMEN

Se determinan las concentraciones séricas de colesterol total, fosfolípidos, triglicéridos, HDL-colesterol, HDL1-colesterol, HDL2-colesterol, LDL-colesterol y el lipidograma de 52 perros sanos, de diferentes sexos y edades, así como las apolipoproteínas A-I y B de 11 de estos de estos animales. Se pudo comprobar que la mayor parte del colesterol plasmático de esta especie es transportado por la HDL ($3,63 \pm 1,06$ mmol/l), fundamentalmente en la subfracción HDL2 ($2,37 \pm 1,04$ mmol/l), mientras que la LDL-colesterol aparece en una concentración media de tan sólo $0,60 \pm 0,51$ mmol/l. Esto contrasta con los resultados aportados para la especie humana. Los datos son corroborados con los obtenidos en la determinación de las apolipoproteínas A-I y B. Las primeras están en mayor cantidad (entre 59,20 y 111,00 mg/100 ml), ya que en el perro están sobre todo en las HDL. Por lo tanto, y a juzgar por los resultados obtenidos, la especie canina parece estar protegida naturalmente del padecimiento de enfermedades coronarias.

SUMMARY

Serum concentrations of total cholesterol, phospholipids, triglycerides, HDL-cholesterol, HDL1-cholesterol, HDL2-cholesterol, LDL-cholesterol and the electrophoretic pattern of serum lipoproteins were determined in 52 healthy dogs of different sex and age. Apoproteins A-I and B were also determined in 11 of these dogs. It was confirmed that the bulk of serum cholesterol in this species is carried by HDL ($3,63 \pm 1,06$ mmol/l), while LDL-cholesterol appears in a mean concentration of only $0,60 \pm 0,41$ mmol/l. This is in contrast with the results reported in man. These data are corroborated by those obtained in the determination of apoproteins A-I and B. The former appears in higher quantities, ranging between 59.20 mg/100 ml and 111.00 mg/100 ml, given that this lipoprotein in the dog especially appears in HDL. These data suggests, that dogs are naturally protected against coronary diseases.

INTRODUCCIÓN

El colesterol es una sustancia del grupo de los lípidos que tiene como base estructural el núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Desde un punto de vista fisiológico lleva a cabo numerosas funciones: es un componente fundamental de la membrana

de las células eucariotas y de la vaina de mielina que rodea a los nervios, donde favorece una adecuada conducción del impulso nervioso; se comporta como precursor en la síntesis de hormonas esteroideas y se encuentra en cantidad importante en la piel, donde un derivado del mismo actúa como provitamina D. Todo el colesterol del orga-

nismo puede tener una doble procedencia: la dieta alimenticia o la síntesis por las propias células (1).

El colesterol, como el resto de las sustancias lipídicas, es insoluble en solventes acuosos y, por tanto, en el plasma sanguíneo. Sin embargo, el organismo necesita transportarlo desde su lugar de absorción hasta los órganos encargados de su metabolismo o a las células para su aprovechamiento. De ello se encargan las lipoproteínas. En los perros sanos se han identificado 5 tipos distintos de lipoproteínas, atendiendo a su tamaño, movilidad electroforética y densidad determinada por ultracentrifugación (2, 3, 4, 5): quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL), de las que se han encontrado dos subtipos (HDL1 y HDL2). En la periferia de las lipoproteínas existen unas moléculas protéicas llamadas apolipoproteínas, que tienen la propiedad de unirse selectivamente a determinadas enzimas, por lo que las dirigen hacia los lugares donde deben ser metabolizadas. En el perro se conocen 5 tipos básicos distintos: apolipoproteínas A, B, C, D y E (6).

Los triglicéridos se encuentran principalmente en los quilomicrones, VLDL y, a diferencia del hombre, en las LDL (3, 4, 7). El colesterol y sus ésteres predominan en la HDL y constituyen también una importante proporción de la LDL (3, 4, 5).

Si bien los estudios realizados sobre los lípidos plasmáticos del perro han sido considerables en la última década, hemos encontrado muy poca información sobre estudios cuantitativos del colesterol transportado por las distintas lipoproteínas en perros normales.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. MUESTRAS

Se han analizado los sueros obtenidos de 52 perros clínicamente sanos (21 machos y 31 hembras), de diferentes razas y edades (media = 25 meses). Los animales habían

sido sometidos previamente a un ayuno de 12 horas. Todas las muestras fueron congeladas a -30°C hasta el momento de su análisis.

2. TÉCNICAS

2.1. Determinación de colesterol sérico

Se valoró el colesterol según la reacción de color producida a partir del H_2O_2 liberada del colesterol esterificado como consecuencia de la reacción enzimática inducida por la colesterol esterasa y colesterol oxidasa. El H_2O_2 reacciona con fenol y amino-4-antipirina para, en presencia de una peroxidasa, dar quinoneimina y H_2O (laboratorios Bio-Merieux).

2.2. Determinación de fosfolípidos séricos

Se valoraron con la reacción de Trinder, a partir de la colina liberada de la hidrólisis de los fosfolípidos por la fosfolipasa D (laboratorios Bio-Merieux).

2.3. Determinación de triglicéridos séricos

Se realizó con un método enzimático merced a la acción de la lipasa, glicerocinasa y glicerol-3-fosfato. El H_2O_2 liberada reacciona con paraclorofenol y amino-4-antipirina para, en presencia de peroxidasa, dar quinoneimina y H_2O , cuyo color es valorado (laboratorios Bio-Merieux).

2.4. Determinación de HDL-colesterol sérica

Se realizó según el método de Kostner (8). Para ello, se utilizaron distintas concentraciones de polietilenglicol a pH diferentes, capaces de precipitar por un lado las VLDL y LDL valorándose en el sobrenadante el HDL-colesterol total. Otra concentración precipita además la HDL1 y se valora directamente en el sobrenadante la HDL2-colesterol (Laboratorios Immuno).

2.5. Determinación de LDL-colesterol sérica

Se realizó la precipitación selectiva de la fracción LDL mediante la adición de surfactante aniónico policíclico policondensado y dioxano polisustituido, a pH 6,10. Mediante centrifugación se aísla la fracción LDL en el

precipitado cuyo colesterol, posteriormente, es valorado (7) (laboratorios Bio-Merieux).

2.6. Determinación de apolipoproteínas

Se determinaron la apolipoproteínas A-I y B en 11 sueros mediante nefelometría láser.

2.7. Lipidograma

Se realizó en tiras de celogel, con tampón de Veronal sódico 0,04M y un tiempo de migración de 20 min. Como colorante se utilizó Negro Sudán-B.

3. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Se calcularon para cada variable los siguientes parámetros descriptivos: media, mediana y desviación estándar a la media. Igualmente, se determinaron los coeficientes

de correlación existentes entre todas las variables y su probabilidad máxima de error.

RESULTADOS

En la Tabla I se encuentran reflejados los resultados obtenidos en el estudio estadístico realizado entre los distintos parámetros estudiados.

La Tabla II representa los coeficientes de correlación lineal, con su probabilidad máxima de error, hallados entre todos los parámetros.

Las apolipoproteínas A-I y B se determinaron en 11 animales cuyos valores individuales, expresados en mg/100 ml, se relacionan en la Tabla III.

Tabla I.—Valores correspondientes a la media (\bar{x}), mediana (Med) y desviación estándar (DS), expresados en mmol/l, de la concentración sérica de colesterol total, fosfolípidos, triglicéridos, HDL-colesterol, HDL1-colesterol, HDL2-colesterol y LDL-colesterol.

	<i>N</i>	\bar{x}	<i>Med.</i>	<i>DS</i>
Colesterol	52	4,81	4,84	1,13
Fosfolípidos	52	12,40	4,94	1,05
Triglicéridos	52	0,66	0,59	0,37
HDL-colesterol	52	3,63	3,52	1,06
HDL 1-colesterol	52	1,27	1,05	0,71
HDL 2-colesterol	52	2,37	2,08	1,04
LDL-colesterol	52	0,60	0,51	0,41

Tabla II.—Coeficiente de correlación lineal, con su probabilidad máxima de error, hallados entre los parámetros estudiados.

	<i>Colest.</i>	<i>Fosfol.</i>	<i>Triglic.</i>	<i>HDL-col.</i>	<i>HDL1-col.</i>	<i>HDL2-col.</i>	<i>LDL-col.</i>
Colest.	1,000						
Fosfol.	0,560	1,000					
	0,000						
Triglic.	0,300	0,248	1,000				
	0,026	0,076					
HDL-col.	0,627	0,297	0,176	1,000			
	0,000	0,032	0,209				
HDL 1-col.	0,627	0,295	0,335	0,761	1,000		
	0,000	0,033	0,014	0,000			
HDL 2-col.	0,462	0,034	0,189	0,384	-0,301	1,000	
	0,000	0,808	0,179	0,004	0,029		
LDL-col.	0,353	0,338	-0,007	-0,221	-0,308	0,105	1,000
	0,010	0,014	0,955	0,114	0,026	0,457	

Tabla III.—Valores individuales expresados en mg/100 ml correspondientes a las apolipoproteínas A-I y B de 11 perros.

Nº Perro	Apo-A-I	Apo-B
15	78,80	14,40
16	84,00	18,70
21	111,00	17,90
23	67,60	14,40
24	83,70	14,40
45	72,30	14,40
46	76,50	23,60
47	59,20	14,40
49	76,80	14,40
50	90,50	14,40
51	74,50	14,40

En el lipidograma se observó una banda localizada en la región prebeta muy pequeña, con un valor medio del 5% en todas las muestras, indicativo de la presencia en baja concentración de VLDL; una región beta, correspondiente a la LDL, que apareció en una proporción que oscilaba entre un 30 y un 35%, y una región alfa, correspondiente a la HDL, que fue la que presentó un mayor tamaño e intensidad, correspondiente a un 60-65%.

DISCUSIÓN

Las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos son dos parámetros muy estudiados en la especie canina. Los valores medios encontrados ($4,81 \pm 1,13$ mmol/l para el colesterol y $0,66 \pm 0,59$ mmol/l para los triglicéridos) se encuentran comprendidos dentro de los límites considerados como normales por los autores consultados (6, 9, 10, 11, 12, 13, 14). En contraste con los dos parámetros anteriores, existen en la bibliografía pocos datos referentes a los valores séricos normales de los fosfolípidos, quizás porque su aplicación en la clínica canina no está aún muy aclarada. La concentración media hallada en nuestro trabajo fue de $12,40 \pm 4,94$ mmol/l, comparable también a los valores descritos por otros autores (13, 15).

Hemos encontrado una concentración media para la LDL-colesterol de $0,60 \pm 0,41$ mmol/l, cantidad realmente baja si se compara con la del hombre, y que coincide con los valores encontrados por Barrie et al. (16) en 1993 utilizando una técnica combinada de ultracentrifugación/precipitación. La concentración media de colesterol transportada por la LDL canina es del 12,60%, lo que viene a confirmar los datos obtenidos en la electroforesis, ya que aunque hemos obtenido un valor de un 30-35% para la región beta, en contraste con lo que ocurre en el hombre, la LDL transporta sólo un 20% aproximadamente del colesterol (3).

A juzgar por nuestros resultados, la mayor parte del colesterol sérico en el perro (70,60%) es transportado por la HDL, como lo demuestra el alto índice de correlación existente entre ambos parámetros (Tabla II), lo que coincide con las observaciones realizadas por Mahley y Weisgraber (3) en 1974. La HDL-colesterol aparece en una concentración media de $3,63 \pm 1,06$ mmol/l, valor muy superior al de la LDL-colesterol y semejante al encontrado por Gascón et al. (13) en 1988 y superior al aportado por Barrie et al. (16) en 1993, que también obtiene unos valores de colesterol total inferior a los encontrados por nosotros. En la electroforesis, la HDL aparece como la principal lipoproteína en cuanto a cantidad se refiere (60-65%).

En el suero normal del perro se han descrito dos subclases de HDL que presentan distinta densidad: HDL1 y HDL2. La concentración más alta de colesterol que hemos encontrado corresponde a la HDL2, con una concentración media de $2,37 \pm 1,04$ mmol/l, observación que coincide con las investigaciones llevadas a cabo por Mahley y Weisgraber (3) en 1974. La HDL1 aparece con una concentración media de colesterol de $1,27 \pm 0,71$ mmol/l. Ambas subfracciones, como ocurre con la HDL total, presentan un alto índice de correlación con el colesterol (Tabla II).

Estos resultados son corroborados con los obtenidos en la determinación de apolipoproteínas A-I y B por nefelometría láser.

Las primeras aparecen en cantidades que oscilan entre 59,20 y 111 mg/100 ml, concentración considerable y lógica si se tiene en cuenta que esta apolipoproteína aparece en el perro, principalmente, en las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Por el contrario, la apolipoproteína B, está en muy baja concentración. De los 11 animales estudiados, 8 son inferiores a 14,40 mg/100 ml y la concentración más alta es de 23,60 mg/100 ml. Esta apolipoproteína se encuentra fundamentalmente en las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

En medicina humana, el aumento de la concentración total de colesterol y de LDL-colesterol, así como la disminución de la HDL-colesterol y de la HDL2-colesterol es de gran importancia, ya que existe una correlación inversa entre la cifra de HDL y la incidencia de enfermedades coronarias y directa entre la LDL y el mismo padecimiento (17). A juzgar por los resultados obtenidos, la especie canina parece estar protegida naturalmente de enfermedades coronarias por una doble razón ya que presenta una concentración de HDL-colesterol alta ($3,63 \pm 1,06$ mmol/l). De hecho, para producir experimentalmente la arterioesclerosis en perros es necesario que la concentración de colesterol plasmático supere los 750 mg/100 ml y que además, se acompañe de algún tipo de injuria vascular, p. ej. por infección con *Dirofilaria immitis* (18).

BIBLIOGRAFÍA

- (1) BARTLEY, J.C. (1980): «Lipid metabolism and its disorders». En: *Clinical biochemistry of domestic animals*. Kaneko, J.J., ed. 3.ª ed., pp. 54-96. Academic Press, London.
- (2) HOLLANDERS, B.; MOUGIN, A.; N'DIAYE, F.; HENTZ, E.; AUDE, X.; GIRARD, A. (1986): «Comparison of the lipoprotein profiles obtained from rat, bovine, horse, dog, rabbit and pig serum by a new two-step ultracentrifugal gradient procedure». *Comp. Biochem. Physiol.*, **84**: 83-89.
- (3) MAHLEY, R.W.; WEISGRABER, K.H. (1974): «Canine lipoprotein and atherosclerosis. I. Isolation and characterization of plasma lipoproteins from control dogs». *Circ. Res.*, **35**: 713-721.
- (4) WATSON, T.D.G.; BARRIE, J. (1993): «Lipoprotein metabolism and hyperlipidaemia in the dog and cat: a review». *J. Small Anim. Pract.*, **34**: 479-487.
- (5) FORD, R.B. (1995): «Canine hyperlipidemia». En: *Textbook of veterinary internal medicine*. Vol. 2. Ettinger, S.J., y Feldman, E.C., eds., pp. 1414-1419. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- (6) JOHNSON, R.K. (1989): «Canine hyperlipidemia». En: *Textbook of veterinary internal medicine*. Vol. 1. Ettinger, S.J., ed., pp. 203-208. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- (7) ASSMAN, G. (1982): *Lipid metabolism and atherosclerosis*. F.K. Schattauer Verlag GmbH, Stuttgart.
- (8) KOSTNER, G.M.; MOLINARI, E.; PICHLER, P. (1985): «Evaluation of a new HDL2/HDL3 quantitation method based on precipitation with polyethylene glycol». *Clin. Chim. Act.*, **148**: 139-147.
- (9) COLES, E.H. (1989): *Diagnóstico y patología en veterinaria*. 4.ª ed. W.B. Interamericana, México.
- (10) TURNWALD, G.H.; WILLARD, M.D. (1989): «Endocrine, metabolic and lipids disorders». En: *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. Willard, M.D., Tvedten, H. y Turnwald, G.H., ed., pp. 154-188. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- (11) HARDY, R.M. (1983): «Diseases of the liver». En: *Textbook of veterinary internal medicine*. Vol. 1. Ettinger, S.J., ed., pp. 1372-1434. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- (12) GASCÓN, M.D.; MARCA, M.C.; NEBOT, E.; EL BUSTO, M.I. (1988): «Hiperlipemias en perros: estudio del perfil lipídico en perros con filariosis». *Med. Vet.*, **5**: 463-466.
- (13) GASCÓN, M.D.; MARCA, M.C.; NEBOT, E.; EL BUSTO, M.I. (1988): «Hiperlipemias en perros: su incidencia y relación con cardiomiopatías isquémicas, función hepática y renal. II Estudio del perfil lipídico en perros con procesos infecciosos y parasitarios». *Med. Vet.*, **5**: 589-593.
- (14) KURZMAN, I.D.; McEWEN, E.G.; HAFFA, A.L. (1990): «Reduction in body weight and cholesterol in spontaneously obese by dehydroepiandrosterone». *Int. J. Obes.*, **14**: 95-104.
- (15) OLMSTED, C. (1971): «Studies on the role of phospholipid in the triglyceride cycle. 3. Liver and plasma phospholipid exchange in depancreatized dogs». *Lipids*, **6**: 394-400.
- (16) BARRIE, J.; NASH, A.S.; WATSON, T.D.G. (1993): «Quantitative analysis of canine plasma lipoproteins». *J. Small Anim. Pract.*, **34**: 226-231.
- (17) GORDON, T.; CASTELLI, W.P.; HJORTLAND, M.C.; KANNEL, W.B.; DAWBER, T.R. (1977): «High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: Framingham study». *Amer. J. Med.*, **62**: 707-722.
- (18) SCHAUB, R.G.; KEITH, J.C.; BELL, F.P.; HUNT, C.E. (1987): «A study of atherosclerotic lesion development in the injured pulmonary arteries of dogs with induced hyperlipemia». *Lab. Invest.*, **56**: 489-498.