



# Comparación de dos métodos para la determinación de los niveles de colesterol HDL, en una especie con patrón HDL

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

José Henry Osorio<sup>1</sup>, Vivian Rocio Rangel<sup>2</sup>, Johana Carmona<sup>2</sup>,  
Lucy Marcela Barrera<sup>2</sup>, Jazmín Vinazco<sup>2</sup>, Yirli Johanna Suarez<sup>2</sup>, Eliana Zulay Cañas<sup>2</sup>,  
Sandra Lorena Giraldo<sup>1</sup>, Luisa Fernanda Loaiza<sup>1</sup>, Maria Elena Alvarez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas.

<sup>2</sup>Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.

<sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología, Universidad de Caldas.

jose.osorio\_o@ucaldas.edu.co

(Recibido: noviembre 8, 2010; aprobado: diciembre 17, 2010)

**RESUMEN:** Introducción. Los métodos utilizados de manera rutinaria para la determinación del perfil lipídico en humanos, una especie con patrón metabólico LDL, deben evaluarse para su uso en la determinación del perfil lipídico en especies con patrón HDL. Objetivo. Comparar el método directo y el método de precipitación para la determinación del colesterol HDL, en una especie con patrón HDL. Materiales y métodos. Fueron tomadas en estado de ayuno, muestras de sangre de 200 equinos de diferentes edades sin discriminación del sexo o edad. Luego de extraer el suero, fueron determinados los niveles de colesterol HDL mediante el método directo, posteriormente fueron determinados los niveles de colesterol HDL utilizando el método de precipitación. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante Anova de una vía. Resultados y discusión. El método directo reportó valores (mg/dl) de promedio mínimo, máximo, rango y desviación estándar de 62.2; 37; 101; 64; 10.7 respectivamente, mediante el método de precipitación se obtuvieron valores (mg/dl) de promedio mínimo, máximo, rango y desviación estándar de 62.14; 40; 101; 61; 2.8 respectivamente. El valor de P en el test F, es mayor o igual a 0.05, por lo cual, no se evidencia diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre los valores obtenidos por los dos métodos. Conclusión. Pueden ser utilizados cualquiera de los dos métodos analizados para la determinación del colesterol HDL, en especies con patrón HDL.

**Palabras clave:** equinos, LDL, lípidos, lipoproteína, perfil

## Comparison of two methods for the measurement of HDL cholesterol levels in species with HDL pattern

**ABSTRACT:** Introduction: The routine methods used for lipid profile measurement in humans, a species with LDL pattern, needs to be evaluated for its use in the lipid profile determination for species with HDL pattern. Objective: The objective of the present study was to compare the direct method and the precipitation method for the measurement of HDL cholesterol in species with HDL pattern. Materials and Methods: Samples of 200 horses of different ages without discrimination by sex or age that were fasting were obtained. After serum extraction, levels of HDL cholesterol were determined using the direct and the precipitation methods. The results were statistically analyzed using one way ANOVA. Results: The direct method reported values in mg/dl for media, minimal, maximal, range, and standard deviation of 62.2; 37; 101; 64; 10.7 respectively. The precipitation method reported values for media, minimal, maximal, range, and standard deviation of 62,14; 40; 101; 61; 2,8 respectively. The P value in test F is greater or equal to 0.05, reason why there is no statistical significant evidence at a confidence level of 95% between values obtained using both methods. Conclusion: It is recommended to use any of the two analyzed methods for HDL-cholesterol measurement in species with HDL pattern.

**Key words:** equine, LDL, lipids, lipoprotein, profile

## Introducción

Los métodos utilizados de manera rutinaria, para la determinación del perfil lipídico en humanos una especie con patrón LDL, en la cual, un aumento de grasa y colesterol en la dieta se ven rápidamente reflejados en un aumento de las LDL (Coppo et al., 2003), pueden ser inadecuados para la determinación del perfil lipídico en especies con patrón HDL, las que muestran aumentos de las HDL como respuestas al aumento de las grasas y colesterol en la dieta (Bauer, 1997). Las HDL son las responsables del denominado “transporte reverso del colesterol”, mediante el cual, el colesterol y otros lípidos son removidos de la circulación y llevados al hígado para su degradación, por lo que, se identifican como cardiprotectoras. Las HDL, son sintetizadas y secretadas desde el intestino y el hígado como pre- $\beta$  HDL o HDL discoidales (HDL nacientes), y están compuestas fundamentalmente por apolipoproteína (apo) A-I y fosfolípidos. Las HDL nacientes atraviesan el endotelio vascular de los tejidos periféricos, desde los cuales remueven el exceso de colesterol libre celular, en un procedimiento mediado por el transportador de membrana ABCA1 (Brewer et al., 2003). la enzima plasmática LCAT (*lecithin cholesterol acyltransferase*) capta el colesterol libre captado por las HDL, para formar ésteres de colesterol, que son movilizados hacia el interior de las mismas, dando como resultado las HDL esféricas maduras (Peelman et al., 2000).

El colesterol de las HDL (cHDL) de la circulación, puede ser transferido a las VLDL y LDL, como ésteres de colesterol por acción de la enzima de transferencia de ésteres de colesterol (*cholesteryl ester transfer protein*, CETP). Gracias a ese mecanismo, una fracción importante del colesterol transportado por las HDL es metabolizado por medio de los receptores de la familia del receptor de LDL (Tall et al., 2000).

Las HDL, aportan colesterol a los tejidos del organismo, por endocitosis y degradación intracelular mediada por receptores de la superficie celular (Pittman et al., 1984). Las partículas

de HDL de mayor tamaño y enriquecidas en colesterol adquieren apo E y serían endocitadas por los receptores de la familia del receptor de LD (Leblond, 1993). Se postula que, existe también un mecanismo endocítico degradativo de HDL, independiente de la apo E y, del receptor de LD (García et al., 1996).

Un tercer mecanismo catabólico para las HDL, es la captación celular selectiva del colesterol HDL, sin que se presente internalización ni degradación de la partícula lipoproteica, mediante este proceso metabólico se da el 20-30% de la degradación plasmática total del cHDL en animales que expresan CETP (Goldberg et al., 1991), este proceso ocurre predominantemente en el hígado y es mediado por el receptor SR-BI (scavenger receptor class B type I) (Acton et al., 1996).

Teniendo en cuenta que, en el mercado se encuentran normalmente disponibles dos métodos que miden el colesterol HDL por mediciones de bioquímica clínica, el método directo y el método de precipitado, el presente trabajo tuvo como objetivo, comparar los dos métodos, para la determinación del colesterol HDL en una especie con patrón metabólico HDL.

## Materiales y Métodos

Fueron tomadas en estado de ayuno, muestras de sangre de 200 equinos de diferentes edades sin discriminación del sexo. Luego de extraer el suero, fueron determinados los niveles de colesterol HDL mediante el método directo (Tietz, 1991), su fundamento es el siguiente: el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones es hidrolizado por la colesterol oxidasa mediante una reacción enzimática acelerada no formadora de color. Posteriormente, se solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) de la muestra en presencia de un detergente, para ser cuantificado espectrofotométricamente. Luego, fueron determinados los niveles de colesterol HDL utilizando el método de precipitación, cuyo fundamento es el siguiente: las lipoproteínas de

muy baja densidad (VLDL), y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato y, iones magnesio. El sobrenadante contiene las lipoproteínas de alta densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de una vía, utilizando el programa Stat Graphics Centurium 15.14 (XV). El trabajo contó con la aprobación del respectivo comité de ética.

### Resultados

El método directo reportó valores (mg/dl) de promedio mínimo, máximo, rango y desviación estándar de 62.2; 37; 101; 64; 10.7 respectivamente, mediante el método de precipitación se obtuvieron valores (mg/dl) de promedio mínimo, máximo, rango y desviación estándar de 62.14; 40; 101; 61; 2.8 respectivamente. El valor de P en el test F es mayor o igual a 0.05, por lo cual no se evidencia diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre los valores obtenidos por los dos métodos.

### Discusión

La homeostasis del colesterol corporal es regulada en parte por las HDL, las cuales desplazan colesterol desde el plasma hacia la bilis, para ser secretado como colesterol libre o sales biliares, mediante el denominado "transporte reverso del colesterol" (Radel et al., 2003). Las HDL además, inhiben la agregación y oxidación de las LDL y el daño vascular que esto pueda causar, también están implicadas en la estimulación de la reparación endotelial, en la inhibición de la adherencia de los monocitos al endotelio y su migración a la íntima arterial, en la preservación de la reactividad vascular dependiente del endotelio, en la prevención de la trombosis vascular, así como en la disminución del crecimiento y la proliferación de las células musculares lisas, fenómenos responsables en

gran parte de la degeneración arterial y formación de placas ateroscleróticas, descritas en especies con patrón LDL (Barter et al., 2003). Por lo anterior, es fundamental conocer los niveles de colesterol HDL en las diferentes especies, independientemente del patrón metabólico de las mismas. Sin embargo, el método utilizado de manera rutinaria para la determinación del perfil lipídico en humanos una especie con patrón LDL, es utilizado de manera rutinaria en determinaciones de animales, y es necesario saber si es adecuado para la medición del colesterol HDL, en especies con patrón HDL, debido a que, su metabolismo lipídico es diferente.

El perfil lipídico, incluye la determinación en sangre de los niveles de colesterol total (CT), colesterol HDL (C-HDL), colesterol VLDL (C-VLDL), colesterol LDL (C-LDL), y triglicéridos en suero, el cual puede estar alterado en casos de hipotiroidismo, diabetes mellitus, obesidad, síndrome nefrótico, pancreatitis aguda, ictericia obstructiva, hiperadrenocorticismos, ciertas retinopatías, insuficiencia hepática, síndrome de mala absorción, errores innatos del metabolismo e hipertiroidismo entre otros (National Cholesterol Education Program Expert Panel, 2001). El presente trabajo, analizó la conveniencia de la utilización del método directo (costoso), comparado con el de precipitación (barato), para tal determinación del colesterol HDL, en una especie con patrón HDL, debido a que, el método de precipitación es comúnmente usado en humanos, una especie con patrón LDL. En trabajos anteriores, se realizó el mismo estudio comparativo, para el colesterol LDL, y se encontró que, el método de precipitación no se correlaciona con el directo, por lo cual, no se recomienda su uso (Álvarez et al., 2009), pero, en el presente estudio, encontramos una correlación positiva entre los dos métodos, lo que valida el uso del método de precipitación para la determinación del colesterol HDL, en especies con patrón HDL.

### Conclusión

En la literatura consultada, no se encontraron referencias relacionadas con la determinación del perfil lipídico completo en especies con patrón HDL, por eso, el presente trabajo analizó la conveniencia de la utilización del método directo (costoso), comparado con el de precipitación (barato), para tal determinación, y se encontró que los dos métodos utilizados dan valores similares, por lo cual, se recomienda la utilización del método de precipitación, para la determinación de los valores de colesterol HDL, en especies con patrón HDL.

### Referencias Bibliográficas

- Acton, S.; Rigotti, A.; Landschulz, K.T. et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. **Science**, v.271, p.518-520, 1996.
- Álvarez, M.E.; Suárez-Vela, Y.J.; Cañas-Vélez, E.S. Comparación entre el método directo y el método de precipitación para la determinación de los niveles de colesterol LDL en equinos. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.22 (3), p.402, 2009.
- Barter, P.J.; Brewer, H.B. Jr.; Chapman, M.J. et al. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v.23, p.160-167, 2003.
- Bauer, J.E. Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas. **Pet's Ciencia**, v.13, p.362-376, 1997.
- Brewer, H.B. Jr.; Santamarina-Fojo, S. Clinical significance of high-density lipoproteins and the development of atherosclerosis: focus on the role of the adenosine triphosphate-binding cassette protein A1 transporter. **American Journal of Cardiology**, v.92, p. 10K-16K, 2003.
- Coppo, N.B.; Coppo, J.A.; Lazarte, M.A. Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. **Revista de Veterinaria**, v.14, p.1-10, 2003.
- García, A.; Barbaras, R.; Collet, X. et al. High density lipoprotein 3 receptor-dependent endocytosis pathway in a human hepatoma cell line (HepG2). **Biochemistry**, v.35, p.13064-13071, 1996.
- Goldberg, D.I.; Beltz, W.F.; Pittman, R.C. Evaluation of pathways for the cellular uptake of high density lipoprotein cholesterol esters in rabbits. **Journal of Clinical Investigation**, v.87, p.331-346, 1991.
- Tietz, N.W. **Clinical guide to laboratory tests**, 2nd edition. Saunders Co, New York, USA, 1991.
- National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). **NIH Publication**. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute, 2001.
- Peelman, F.; Vandekerckhove, J.; Rosseneu, M. Structure and function of lecithin cholesterol acyltransferase: new insights from structural predictions and animal models. **Current Opinion in Lipidology**, v.11, p. 155-160, 2000.
- Pittman, R.C.; Steinberg, D. Sites and mechanisms of uptake and degradation of high density and low density lipoproteins. **Journal of Lipid Research**, v.25, p.1577-1585, 1984.
- Rader, D.J.; Regulation of reverse cholesterol transport and clinical implications. **American Journal of Cardiology**, v.92, p.42J-49J, 2003.
- Tall, A.R.; Jiang, X.; Luo, Y. et al. Lipid transfer proteins, HDL metabolism, and atherogenesis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v.20, p.1185-8, 2000.