

EXCRECIÓN URINARIA DE HIDROXIPROLINA EN OVEJAS Urinary hydroxyproline excretion in sheep

Díez, L.*; Prieto, F.*; García-Partida, P.*; Pérez, C.* y Alonso, F.**

* Departamento de Patología General Médica y de la Nutrición. Facultad de Veterinaria de León.

** Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Murcia.

Recibido: 11 junio

Aceptado: 16 diciembre

RESUMEN

Se estudia la excreción urinaria de hidroxiprolina en machos jóvenes y hembras jóvenes y adultas de la raza ovina Churra. Los resultados muestran que la tasa más elevada aparece en ambos sexos a los dos meses y medio de vida, para posteriormente ir descendiendo paulatinamente hasta el final de la experiencia. Se sugiere que la mayor cantidad de colágeno soluble existente en los jóvenes sea la responsable.

Palabras clave: Hidroxiprolina, orina, oveja.

SUMMARY

The urinary hydroxyproline excretion has been studied in young males and females and adults females of the «Churra» strain. The results show that the highest levels appear in both sexes after two and a half months of life, and afterwards they descend slowly until the end of the experiment. It is suggested that the higher quantity of soluble collagen which exists in the young individuals to be responsible.

Keywords: Hydroxyproline, urine, sheep.

INTRODUCCIÓN

La hidroxiprolina es un aminoácido que se encuentra casi exclusivamente en el colágeno, existiendo trazas en otras proteínas (elastina) y péptidos. En los líquidos biológicos se halla bajo dos formas, una peptídica y otra libre; en la orina, la forma peptídica representa el 95% de la hidroxiprolina urinaria mientras que en el suero supone solamente el 5%.

La excreción de hidroxiprolina en orina, refleja esencialmente el metabolismo del colágeno óseo (DULL y col., 1963; LANGNESS y col. 1971; PROCKOP y col. 1967) ya que aunque éste representa solamente el 57% del colágeno total, por ser más activo metabólicamente, del 70 al 80% de la hidroxiprolina total de la orina, provendría del colágeno del hueso, lo cual ha sido corroborado por estudios realizados en ratas y

ratones (GARCÍA-PARTIDA y col. 1978, 1981; KIVIRIKKO y col. 1958 y LINDSIEDT y col. 1961).

Se encuentran pocos trabajos que estudien en los animales domésticos tanto la tasa sérica como la urinaria de hidroxiprolina, probablemente debido en algunas ocasiones, a los problemas planteados por la toma de muestras (necesidad de cuantificar la diuresis) y en otras requerir una técnica analítica larga y trabajosa.

En el ganado vacuno se ha estudiado especialmente el nivel sérico de hidroxiprolina en periodos que rodean al parto (BERIONI y col. 1979; LIN y col. 1980), apreciándose un incremento similar al señalado en ratas (GARCÍA PARTIDA y col. 1981); cuando el período puerperal no es normal (paresia puerperal) se observa un aumento notablemente menor (BLACK y col. 1971; EDQVIST y col. 1976; HOLLIS y col.

CUADRO 1
VALORES DE PESO (KG.), DIURESIS (ML/DÍA) E HIDROXIPROLINURIA (MG/DÍA) EN OVEJAS Y CORDEROS DE DIFERENTES EDADES DE LA RAZA CHURRA

	EDAD	PESO	DIURESIS	HIDROXIPROLINURIA
Hembras	1 mes	6'58±0'21	695'50±33'17	100'67±5'18
	2 1/2 meses	13'99±0'17	1.110'00±17'04	113'73±2'57
	6 meses	34'75±0'22	1.056'50±76'16	77'62±5'53
	1 año	41'02±0'29	1.159'37±48'09	66'58±4'45
	2 años	49'35±0'35	1.401'00±60'41	40'25±1'89
	3 años	54'92±0'25	1.366'00±86'50	17'30±1'03
Machos	1 mes	10'85±0'23	594'00±17'39	129'47±7'98
	2 1/2 meses	14'46±0'16	1.208'00±61'18	140'18±7'61

1979; JÖNSSON y col. 1980; NURMIO y col. 1973); asimismo la hidroxiprolina ha sido valorada como índice de la homeostasis cálcica (EVANS y col. 1976).

En équidos, los trabajos se centran en la hidroxiprolina sérica libre (FUJII y col. 1981; JAE-SOHKE, 1975). En ganado ovino se ha valorado la relación urinaria de hidroxiprolina libre y total y creatinina (GORDON, 1982) cuando se altera el recambio óseo. Como indicadora de la intensidad del metabolismo del hueso, se ha estudiado la hidroxiprolina urinaria (ANDERSON, 1968; PLONAIT, 1970) y la sérica (FEDER y col. 1975) en cerdos. En perros también superiores en los jóvenes respecto a los adultos; asimismo la tasa aumenta cuando los animales sufren procesos osteolíticos (VANNIMENUS, 1976). Finalmente, en las aves se ha comprobado la hidroxiprolinemia en pollos normales (BANNISTER y col. 1970) relacionándola con la edad y en pollos escolióticos (LIN y col. 1980) apareciendo tasas del doble de la de los testigos; la valoración de la hidroxiprolinuria (DIEZ, 1981) revela cifras superiores en las hembras que en los machos, inversamente a lo encontrado en los mamíferos.

El presente estudio tiene por objeto conocer los valores normales de excreción urinaria de hidroxiprolina en ovejas de la raza Churra, tanto jóvenes como adultas, aportando nuevos datos cuya utilidad va enfocada a posteriores estudios sobre algunas alteraciones óseas de esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han empleado 60 ovejas hembras de la raza churra agrupadas, en 6 grupos de 10 animales cada uno, con arreglo a su edad; los gru-

pos correspondían al mes, a los dos meses y medio, a los seis meses, al año, a los dos años y a los tres años de edad; en estos últimos grupos las hembras no estaban gestando. Así mismo se han utilizado 20 machos de la misma raza, integrando dos grupos de 10 animales, correspondientes a las edades de un mes y dos meses y medio.

Todos los animales pertenecían a la misma explotación y su alimentación consistía en la leche materna en aquellos de un mes de vida, leche materna y pienso comercial en los de dos meses y medio y pasto en el resto de los animales.

Las muestras de orina fueron obtenidas en las hembras por la cateterización de la vejiga, tras inserción mediante técnicas asépticas y conexión de una sonda de Foley a una bolsa colectora de orina (Urobag 7, Palex S.A.) que se fijaba a la lana del animal. En los machos se recurrió a la utilización de un colector en embudo que se conectó la bolsa de recolección. En los dos casos este instrumental se mantuvo durante 24 horas de modo que la orina obtenida representase la diuresis de cada oveja.

La alimentación durante el día de la toma de muestras fue similar a la que los animales disfrutaron durante el resto de los días que no eran de muestreo.

La técnica analítica de valoración de la hidroxiprolinuria se basa en la fijación de la misma a una resina intercambiadora de cationes fuertemente ácida; tras la hidrólisis de los péptidos en la resina, se oxida, hasta obtener un derivado pirrólico que se colorea con el reactivo de Ehrlich (Organón, Oss, Holanda) y se determina cuantitativamente por espectrofotometría a 560 nm en un Spectronic 70.

HIDROXIPROLINURIA

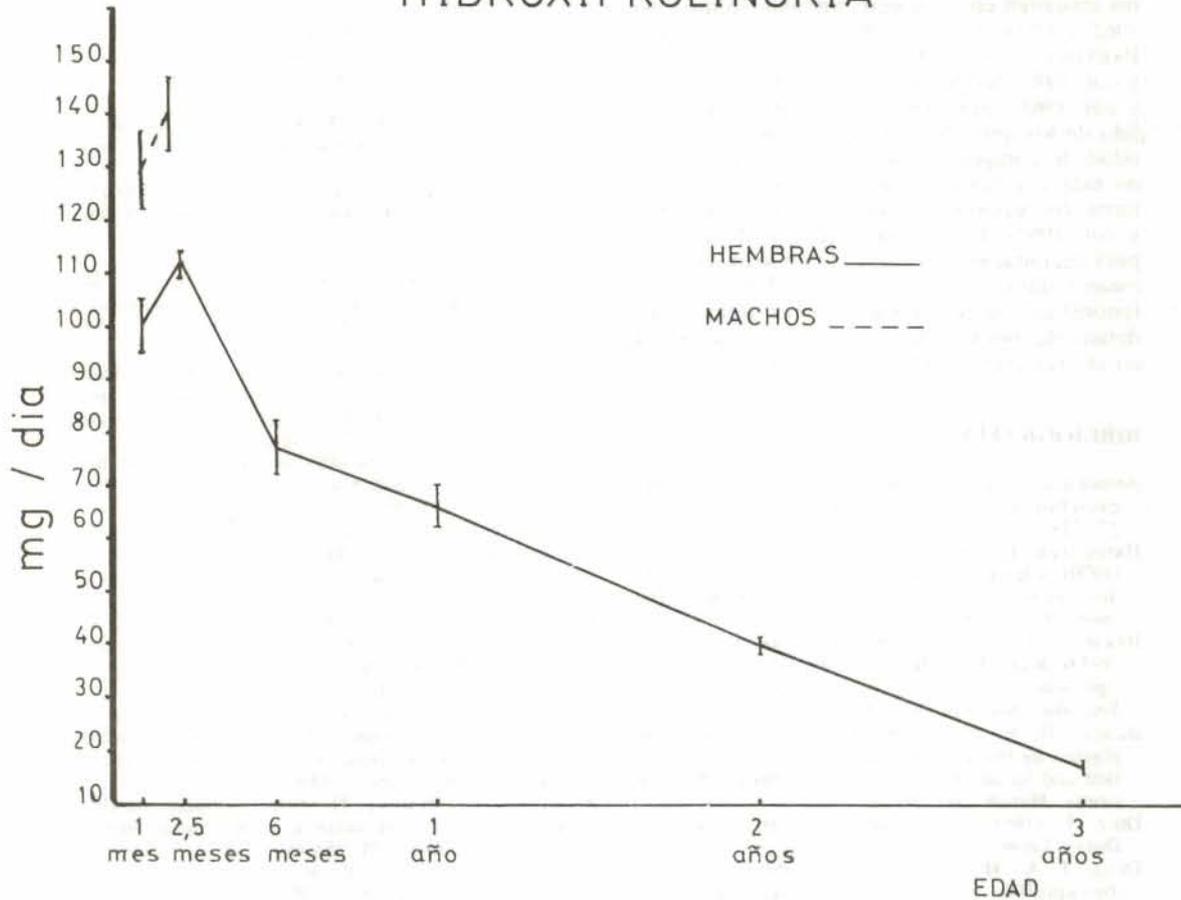


FIGURA 1. Valores medios de hidroxiprolinuria en ovinos de la raza Churra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, expresando las medias y el error estándar de los grupos, respecto a peso en Kg, diuresis en ml/día e hidroxiprolinuria en mg/día, se muestran en el cuadro I para hembras y machos conjuntamente.

Las cifras de diuresis muestran un rápido incremento en los primeros meses, hasta alcanzar a los dos meses y medio de edad los valores de $1110'00 \pm 17'04$ ml/día en las hembras y de $1208'00 \pm 61'18$ ml/día en los machos; a partir de este momento, las tasas se mantienen similares a las señaladas por la mayoría de los autores (NOTTLE y col. 1966; TOMAS y col. 1973).

Estudios realizados en otras especies (ANDERSON, 1968; DIEZ PRITO, 1981; GARCÍA PARTIDA y col. 1978 y 1981; JASIN y col. 1962;

LAITINEN y col. 1966; PROCKOP y col. 1967; VANNIMENUS, 1976), indican que la excreción de hidroxiprolina depende, entre otros factores, de la edad, sexo y del tamaño corporal de los individuos. En nuestro caso los valores de hidroxiprolinuria son superiores en los machos con respecto a las hembras en las dos edades estudiadas (figura 1), probablemente como consecuencia de la mayor masa ósea de los primeros; este dato concuerda con el ya señalado en otros mamíferos por García-Partida, pero no con las aves (DÍEZ, 1981), en las cuales se supone que la actividad del metabolismo óseo prima sobre la masa corporal.

La cantidad total de hidroxiprolina excretada en la orina es superior en los animales jóvenes (figura 1), encontrándose el valor más alto en la edad de dos meses y medio, para posteriormente descender de una manera continuada

hasta el final del estudio. Observaciones similares aparecen en la especie humana (JASIN y col. 1962; LAITINEN y col. 1966) en ratones (GARCÍA PARTIDA y col. 1978) y ratas (GARCÍA PARTIDA y col. 1981; KIVIRIKKO y col. 1958; LINDSTEDT y col. 1961) probablemente debido a que el tejido de los animales jóvenes contiene más cantidad de colágeno soluble y que la proporción de éste con respecto al insoluble aumenta durante los períodos de rápido crecimiento (JASIN y col. 1962). Las razones que justifican la rápida degradación del colágeno en los jóvenes no están todavía aclaradas, pero probablemente el fenómeno está relacionado con el rápido remodelado del hueso y los otros tejidos que sucede en el crecimiento (PROCKOP y col. 1967).

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, J. J. B. (1968): Urinary hydroxyproline excretion in swine as a function of age. *Fed. Proc.* 27: 728.
- BANNISTER, D. W.; TAYLOR, T. G.; BURNS, A. B. (1970): Changes in age in the level of plasma hydroxyproline in the domestic fowl. *Intern. J. Biochem.* 1: 735-742.
- BERTONI, G.; PALLAVICINI, G.; GALIMBERTI, A. (1979): Ricerche sulle variazioni ematiche di idrossiprolina nelle lattifere al parto. *Atti Conv. Naz. Soc. Ital. Sci. Vet.* 33: 220.
- BLACK, H. E.; CAPEN, C. C. (1971): Urinary and plasma hydroxyproline during pregnancy, parturition and lactation in cows with parturient hypocalcemia. *Metabolism* 20: 337-344.
- DIEZ, I. (1981): Hidroxiprolinuria en aves. *Tesis Doct.*, León.
- DULL, T. A.; HENNEMAN, P. H. (1963): Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. *New Engl. J. Med.* 268: 132-134.
- EDQVIST, L. E.; EKMAN, L.; JÖNSSON, G.; PEHRSON, B. (1975): Gonadal hormones and hydroxyproline in the blood of cows with parturient paresis. *Proc. 20th World Vet. Cong., Thessaloniki* 3: 1.906-1.910.
- EVANS, J. L.; FISH, R. E.; LELKES, Z. B.; TROUT, J. R. (1976): Hydroxyproline in serum as a homeostatic index for calcium in cattle. *J. Dairy Sci.* 59: 1.838-1.841.
- FEDER, H.; WEGNER, W. (1975): Zum gaschromatographisch ermittelten Hydroxyprolinegehalt im Blutplasma bei Ebernachkommengruppen der deutschen Landrasse. *Deutsch. Tierärztl. Wochensh.* 82: 198-202.
- FUJII, Y.; WATANABE, H.; UEDA, Y.; YAMAOKA, S.; NIWA, K.; YAMAMOTO, T. (1981): Diagnostic value of free hydroxyproline in horse serum. *Bull. Eq. Res. Inst. Japan* 18: 73-83.
- GARCÍA PARTIDA, P.; DIEZ PRIETO I.; PÉREZ GARCÍA, C. C.; PALMEIRO TROITINO, R. (1981): Hidroxiprolinuria en ratas (relación entre raza, edad, sexo y gestación). *An. Fac. Vet. León* 27: 119-123.
- GARCÍA PARTIDA, P.; RICO LENZA, H.; DEL RÍO VÁZQUEZ, A.; ESPINOS PÉREZ, D. (1978): Hidroxiprolinuria de la souris. En *L'animal de laboratoire au service de l'homme. Collection Fondation Mérieux. Lyon.* 127-130.
- GORDON, A. J. (1982): Effect of dexamethasone and cyclophosphamide on urinary hydroxyproline to creatinine ratios in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 35: 153-161.
- HOLLIS, B. W.; DRAPER, H. H. (1979): Hormonal assessment of bovine parturient paresis. *Fed. Proc.* 38 (3, 1): 765.
- JAESCHKE, G. (1975): Zur routinemässigen Bestimmung des freien Hydroxyprolins im Pferdeserum. *Methodik und Normalwerte. Zbl. Vet. Med. A.* 22: 89-101.
- JASIN, H. E.; FINK, C. W.; WISE, W.; ZIFF, M. (1962): Relationship between urinary hydroxyproline and growth. *J. Clin. Invest.* 41 (10): 1.928-1.935.
- JÖNSSON, G.; PEHRSON, B.; LUNDSTRÖM, K.; EDQVIST, L. E.; BLUM, J. W. (1980): Studies on the effect of the amount of calcium in the prepartum diet on blood levels of calcium, magnesium, inorganic phosphorus, parathyroid hormone and hydroxyproline in milk fever prone cows. *Zbl. Vet. Med. A* 27: 173-185.
- KIVIRIKKO, K. I.; LIESMAA, M. (1958): Effect of cortisone and age on the hydroxyproline and proline concentrations of blood and urine in the rat. *Acta Endocrinol.* 27: 441-445.
- LAITINEN, O.; NIKKILA, E. A.; KIVIRIKKO, K. I. (1966): Hydroxyproline in the serum and urine. Normal values and clinical significance. *Acta Med. Scand.* 179: 275-284.
- LANDRE, Y. (1981): Etude du taux plasmatique d'un catabolite du collagène, l'hydroxyproline, pendant la période qui entoure le vêlage chez la vache allaitante. *Thèse Doct.*, Alfort.
- LANGNESS, U.; BEHNKE, H. (1971): Collagen metabolites in plasma and urine in osteogenesis imperfecta. *Metabolism*, 20: 456-463.
- LIN, H. J.; BENSON, D. R.; RIGGINS, R. S.; RUCKER, R. B.; ABBOTT, U. K. (1980): Plasma free hydroxyproline, growth, and sexual maturity in the scoliotic chicken. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 165: 345-348.
- LINDSTEDT, S.; PROCKOP, D. J. (1961): Isotopic studies on urinary hydroxyproline as evidence for rapidly catabolized forms of collagen in the young rat. *J. Biol. Chem.* 236: 1.399-1.403.
- NOTTLE, M. C.; ARMSTRONG, J. M. (1966): Urinary excretion of silica by grazing sheep. *Aust. J. Agric. Resp.* 17: 165-173.
- NURMIO, P.; RAJAKOSKI, E. (1973): Hydroxyproline excretion in bovine puerperal paresis with special reference to bone resorption. *Zbl. Vet. Med. A* 20: 609-613.
- NURMIO, P.; RAJAKOSKI, E. (1973): Further investigations on hydroxyproline excretion in bovine puerperal paresis. *Zbl. Vet. Med. A* 20: 701-704.
- PLONAIT, H. (1970): Die ausscheidung von hydroxyprolinpeptiden in harn von schweinen als indikator der intensität des knochenstoffwechsels. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochensh.* 83: 11-14.
- PROCKOP, D. J.; KIVIRIKKO, K. I. (1967): Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. *Biochemistry and clinical applications. Ann. Intern. Med.* 66: 1.243-1.266.

TOMAS, F. M.; JONES, G. B.; POTTER, B. J.; LANGSFORD, G. L. (1973): Influence of saline drinking water on mineral balances in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 24: 377-386.

VANNIMENUS, D. P. P. (1976): Contribution à l'étude du dosage de l'hydroxyproline urinaire chez le chien sain et dans quelques cas pathologiques. Thèse Doct., Alfort.