

Variaciones fotoperiódicas de algunas constantes de la bioquímica sanguínea del conejo

J. C. Illera, G. Silván, P. Lorenzo, A. Portela, M. J. Illera y M. Illera*

Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Veterinaria. U.C.M.
28040 Madrid (España)

(Recibido el 13 de marzo de 1991)

J. C. ILLERA, G. SILVÁN, P. LORENZO, A. PORTELA, M. J. ILLERA and M. ILLERA. *Photoperiodic Variations on Some Hematochemical Parameters in Rabbits*. Rev. esp. Fisiol., 48 (1), 7-12, 1992.

Biochemical blood parameters generally show fluctuations during the day. The aim of this study is to determine the variations of the following parameters: hemoglobine, glucose, triglycerides, ASAT, ALAT, urea and creatinine in New Zealand white (NZW) rabbits, kept under five different circadian rhythms (12/12, 14/10, 10/14, 16/8, 8/16, light/dark). These parameters were analyzed by using a reflection photometer (Reflotron). Most results are found within the physiological range for this species but there are significant differences among cycles. These findings could be explained by the dependence of the biochemical blood parameters on the light/dark cycle. It can be concluded that the most useful cycle to find fewer variations of the biochemical blood parameters in NZW rabbit is 12/12 light/dark cycle.

Key words: Photoperiodic, Blood, Hematochemical parameters, Rabbits, Circadian rhythms

Desde el punto de vista fisiológico se considera interesante conocer cómo las variaciones de los ritmos circadianos, bajo las que se mantienen los animales de experimentación, pueden influir sobre las constantes bioquímicas de su sangre; de tal forma que cuando se haga preciso trabajar en determinadas condiciones de ciclos luz/oscuridad se sepa si las variaciones que se

encuentran son propias del estudio o hay que achacarlas al cambio de ritmo circadiano.

En este trabajo se estudian las influencias de cinco ritmos circadianos (12) distintos (8/16, 10/14, 12/12, 14/10 y 16/8 horas, luz/oscuridad) sobre algunos parámetros de la sangre del conejo blanco.

Como constantes a analizar se han elegido las siguientes: hemoglobina, glucosa, triglicéridos, creatinina, urea, ALAT y

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

ASAT, que representan gran parte de los aspectos metabólicos del animal.

Material y Métodos

Se ha utilizado un total de 40 conejos machos, adultos, de raza blanca de Nueva Zelanda (NZW), con un peso comprendido entre 3 y 5 kg.

Los animales se alojaron en jaulas individuales de acero inoxidable (48 × 61 × 46 cm) en una habitación con ambiente controlado de temperatura (18-24 °C), humedad relativa (50-55 %) y renovación de aire (10-15 cambios/h). A cada animal se administraron diariamente 150 g de alimento estándar en forma de pellets (proteína 16,2 %, grasa 2,5 % y fibra 13,5 %) y agua *ad libitum*.

Los animales se sometieron a un período de aclimatación, de al menos quince días, para adaptarse a los cambios del ciclo luz/oscuridad. Los ritmos circadianos a los que se expusieron los animales fueron los siguientes:

Primero: 8 h L / 16 h O (8/16).

Segundo: 10 h L / 14 h O (10/14).

Tercero: 12 h L / 12 h O (12/12).

Cuarto: 14 h L / 10 h O (14/10).

Quinto: 16 h L / 8 h O (16/8).

Las extracciones de sangre se realizaron con intervalos de 4 horas, desde las 8,00 h hasta las 24,00 h del día, pero con distintos animales en cada una de ellas. En cada muestra se recogieron 5 ml de sangre de la arteria central auricular, en tubos heparinizados, mediante el método descrito por ILLERA *et al.* (5). Inmediatamente después se realizó el análisis cuantitativo, en sangre total, de hemoglobina y glucosa. El resto de los parámetros: triglicéridos, creatinina, urea, ASAT y ALAT, fueron analizados cuantitativamente en el plasma sanguíneo, para lo cual las muestras fueron centrifugadas a 4 °C y 1200 × g, durante 20 min.

Todos los análisis se realizaron en fotómetro de reflexión compacto por tiras

(Reflotron, Boehringer Mannheim). El análisis estadístico de las concentraciones de los distintos parámetros (estadística básica e índices de significación) se llevó a cabo mediante el Biomedical Data Program (B.M.D.P.) y el Statistical Graphics System.

Resultados y Discusión

En las tablas I a VII se presentan los resultados de cada uno de los parámetros estudiados, así como los índices de significación para cada uno de los parámetros medidos, cuyos valores se comparan con los presentados por otros autores.

El margen citado por WEISBROTH *et al.* (11), y LOEB y QUIMBY (7), para la hemoglobina es de 8,00 a 15,50 g/dl y los obtenidos en nuestra experimentación, para los cinco ciclos circadianos, oscilan entre $8,06 \pm 0,31$ y $15,12 \pm 0,61$ g/dl (tabla I), valores coincidentes con los indicados, excepto en el ciclo 8/16, en que se produce una elevación de la misma, quizá debido al acortamiento de las horas de luz.

COLLINS *et al.* (1), señalan una concentración para la glucosa de 85,00 a 140,00 mg/dl, coincidiendo con nuestros resultados sólo en los ciclos 12/12 y 8/16 (tabla II). En el resto, existe una ligera elevación. Según otros autores (2) aparece una elevación de la glucemia a las 1-3 horas después de la ingestión del alimento, encontrada también por nosotros en el ciclo 12/12, produciéndose la elevación en la toma de las 12,00 h (el alimento se les administró a las 9,00 h). En el resto de los ciclos, esta elevación tuvo lugar a diferentes horas y sin ninguna relación con el momento de la administración del alimento.

Nuestros valores para los triglicéridos oscilaron entre $68,16 \pm 3,68$ y $141,87 \pm 9,46$ mg/dl (tabla III), datos que pueden considerarse como válidos para todos los ciclos (aunque la evolución sea ligeramente distinta, según el ciclo), y que coinciden con los aportados de otros autores (7),

(55-155 mg/dl). Los valores varían durante las horas de luz, lo que puede ser debido a que normalmente los triglicéridos se acumulan en el tejido adiposo y otras células orgánicas sirviendo de reservorio de energía en situaciones normales o fisiológicas, pero en el caso de los cambios de ciclo circadiano el organismo no tiene la misma capacidad para almacenar triglicéridos (10).

Según KOZMA *et al.* (6) los valores para

las concentraciones plasmáticas de ASAT, en el conejo, oscilan entre $58,8 \pm 28,8$ U/l. Como se indica en la tabla IV existe una dispersión de los valores dependiendo del ciclo y de la hora de la toma de las muestras, debido quizás a que la actividad de esta enzima, en el músculo cardíaco, es muy elevada (4) en situaciones en las que está implicado un aumento del gasto cardíaco por el incremento de la frecuencia, como ocurre en estos casos al cambiar el

Tabla I. *Concentración de hemoglobina (g/dl) en los distintos ciclos circadianos en conejo.*
Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,05$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16 ^a	12,25 \pm 0,45	13,75 \pm 0,55	13,95 \pm 0,25	11,40 \pm 1,42	13,02 \pm 0,63
10/14 ^b	8,14 \pm 0,77	11,45 \pm 0,77	11,16 \pm 1,43	9,93 \pm 2,34	9,65 \pm 2,76
12/12 ^c	12,91 \pm 0,11	13,43 \pm 1,90	8,06 \pm 0,31	8,80 \pm 2,36	10,37 \pm 0,42
14/10 ^d	13,99 \pm 1,03	12,74 \pm 0,70	15,12 \pm 0,61	13,74 \pm 0,15	12,30 \pm 0,44
16/8 ^e	14,10 \pm 0,85	14,60 \pm 0,80	14,35 \pm 0,05	12,75 \pm 1,55	8,67 \pm 0,52

Tabla II. *Concentraciones de glucosa (mg/dl) en los distintos ciclos circadianos en conejo.*
Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,05$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	124,51 \pm 4,59	117,56 \pm 7,50	120,00 \pm 6,02	132,01 \pm 1,03	126,59 \pm 9,58
10/14	130,38 \pm 8,67	137,03 \pm 4,01	135,02 \pm 9,84	148,82 \pm 1,80	137,09 \pm 9,98
12/12	127,59 \pm 1,50	140,07 \pm 4,51	124,57 \pm 1,54	112,03 \pm 2,08	117,31 \pm 2,60
14/10	150,09 \pm 7,01	141,02 \pm 9,03	135,60 \pm 2,01	130,57 \pm 9,05	127,31 \pm 2,68
16/8	134,08 \pm 1,05	125,06 \pm 3,82	144,00 \pm 9,54	131,55 \pm 9,06	120,87 \pm 2,45

Tabla III. *Concentraciones de triglicéridos (mg/dl) en los distintos ciclos circadianos en conejo.*
Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,05$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	70,15 \pm 0,10	85,67 \pm 7,21	68,16 \pm 3,68	121,59 \pm 9,52	101,02 \pm 9,03
10/14	87,69 \pm 9,90	81,34 \pm 9,31	97,80 \pm 9,76	126,00 \pm 9,99	96,23 \pm 9,98
12/12	93,54 \pm 0,50	101,02 \pm 4,67	139,56 \pm 9,56	84,67 \pm 9,35	112,50 \pm 3,57
14/10	90,49 \pm 9,53	72,38 \pm 1,81	141,87 \pm 9,46	75,73 \pm 2,79	118,52 \pm 4,52
16/8	87,78 \pm 9,65	94,01 \pm 9,89	76,40 \pm 3,46	69,70 \pm 4,68	70,14 \pm 6,78

fotoperíodo. Los valores obtenidos en nuestro estudio no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

La ALAT es un ejemplo claro de las variaciones de los parámetros bioquímicos sanguíneos según el ritmo circadiano a que estén sometidos los animales; sus valores son de $35,00 \pm 16,00$ U/l (6, 7). Los valores plasmáticos que nosotros hemos obtenido (tabla V), están comprendidos entre 32,50 y 53,83 UI/l (ciclo 12/12) y algo menores en el ciclo 14/10 (29,31 y 48,80 UI/l), llegando a valores mínimos en la toma de las 8,00 horas; para el ciclo 10/14 son mayores. Por lo que respecta al ciclo 16/8, ninguno de los valores está dentro del margen establecido por los autores y en el 8/16 solamente dos (16,00 y 20,00 horas) de las tomas están comprendidas dentro de esa escala. Por lo que se puede afirmar que estos dos ciclos afectan notablemente a los niveles plasmáticos de ALAT, quizá debido a un cambio en la

funcionalidad hepática, por lo que no se deben utilizar cuando sea necesario medir cualquier tipo de funcionalidad hepática.

Por lo que respecta a los niveles plasmáticos de urea (tabla VI), las variaciones y valores de concentración son similares a los descritos por FOX y LAIRD (3) y LOEB y QUIMBY (7), que citan un margen de concentración entre $14,30 \pm 3,00$ y $38,00 \pm 14,00$ mg/dl, sin encontrar ninguna diferencia significativa con los distintos ciclos luz/oscuridad, apreciándose los picos entre las 16,00 y las 20,00 horas.

MITRUKA y RAWNSLEY (9) establecen, para la creatinina, un valor comprendido entre 0,80 y 2,57 mg/dl. Las concentraciones de nuestro estudio son similares en todos los ciclos (tabla VII), encontrándose un pico a las 12,00 horas, después de administrado el alimento.

A tenor de los resultados obtenidos se puede concluir que el ciclo ideal, donde los parámetros bioquímicos sanguíneos

Tabla IV. Concentraciones de ASAT (U/l) en los distintos ciclos circadianos en conejo. Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p > 0,05$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	49,35 \pm 9,35	30,80 \pm 4,90	14,24 \pm 6,35	21,15 \pm 3,50	22,73 \pm 5,85
10/14	19,58 \pm 0,63	39,62 \pm 9,53	56,09 \pm 9,78	20,55 \pm 4,23	23,05 \pm 3,01
12/12	23,44 \pm 0,77	40,67 \pm 9,94	18,12 \pm 0,92	16,85 \pm 3,88	32,53 \pm 9,10
14/10	18,63 \pm 0,77	53,58 \pm 1,60	30,35 \pm 3,22	21,74 \pm 5,35	27,58 \pm 7,90
16/8	22,75 \pm 3,62	39,84 \pm 0,95	56,90 \pm 9,10	23,05 \pm 0,46	27,70 \pm 9,30

Tabla V. Concentraciones de ALAT (U/l) en los distintos ciclos circadianos en conejo. Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,001$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	74,10 \pm 2,61	63,65 \pm 3,29	39,85 \pm 9,85	40,60 \pm 9,90	79,32 \pm 9,31
10/14	31,82 \pm 4,30	32,06 \pm 9,13	55,95 \pm 8,60	35,98 \pm 2,21	47,05 \pm 5,15
12/12	47,43 \pm 4,46	47,79 \pm 4,57	32,50 \pm 1,28	37,94 \pm 0,81	53,83 \pm 9,70
14/10	29,31 \pm 1,23	43,77 \pm 8,50	38,51 \pm 5,22	40,97 \pm 5,86	48,50 \pm 8,79
16/8	91,80 \pm 5,73	124,91 \pm 9,31	97,75 \pm 9,96	63,40 \pm 3,91	79,31 \pm 9,27

Tabla VI. *Concentraciones de urea (mg/dl) en los distintos ciclos circadianos en conejo.*
Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,001$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	29,82 \pm 3,20	34,25 \pm 3,84	36,15 \pm 5,05	32,26 \pm 2,60	31,02 \pm 3,01
10/14	29,52 \pm 3,90	33,61 \pm 1,63	36,54 \pm 3,53	35,71 \pm 4,40	35,71 \pm 0,50
12/12	37,82 \pm 3,20	39,03 \pm 0,72	39,21 \pm 4,10	40,35 \pm 0,12	30,51 \pm 0,01
14/10	37,31 \pm 2,20	35,93 \pm 0,51	42,02 \pm 3,94	37,33 \pm 5,60	34,50 \pm 0,91
16/8	31,75 \pm 1,55	33,05 \pm 5,45	31,30 \pm 4,26	36,38 \pm 4,95	28,49 \pm 0,84

Tabla VII. *Concentraciones de creatinina (mg/dl) en los distintos ciclos circadianos en conejo.*
Los valores son medias \pm E.S.M., $n = 40$, $p < 0,02$.

Ciclo	8,00 h	12,00 h	16,00 h	20,00 h	24,00 h
8/16	1,01 \pm 0,03	1,09 \pm 0,02	0,98 \pm 0,12	0,86 \pm 0,04	1,00 \pm 0,06
10/14	1,21 \pm 0,10	1,42 \pm 0,31	1,43 \pm 0,20	1,20 \pm 0,10	1,01 \pm 0,11
12/12	1,20 \pm 0,10	1,32 \pm 0,20	1,21 \pm 0,20	1,22 \pm 0,10	1,21 \pm 0,20
14/10	1,22 \pm 0,12	1,43 \pm 0,20	1,42 \pm 0,41	1,41 \pm 0,20	1,36 \pm 0,30
18/8	1,08 \pm 0,10	1,02 \pm 0,17	0,96 \pm 0,04	0,89 \pm 0,06	0,94 \pm 0,03

del conejo blanco de Nueva Zelanda sufren menos variación, es de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad; si bien, en los otros ciclos estudiados, alguno de los parámetros están dentro del margen indicado en la bibliografía consultada. Es muy posible que para otras especies de conejo sean válidas estas mismas conclusiones.

Resumen

Los parámetros bioquímicos sanguíneos presentan generalmente fluctuaciones a lo largo del día. Este estudio determina las variaciones de los siguientes parámetros: hemoglobina, glucosa, triglicéridos, ASAT, ALAT, urea y creatinina en conejos blancos de Nueva Zelanda, mantenidos bajo cinco ritmos circadianos distintos (12/12, 14/10, 10/14, 16/8 y 8/16 horas luz/oscuridad). Estos parámetros se han analizado con un fotómetro de reflexión compacto por tiras (Reflotrón). La mayoría de los

resultados se encuentran dentro de la escala fisiológica para esta especie, pero existen diferencias significativas entre ciclos, lo que podría explicarse por la dependencia de los parámetros bioquímicos sanguíneos al ciclo de horas luz/oscuridad. En conclusión, el ciclo de horas luz/oscuridad más apropiado para encontrar menos variaciones en los parámetros bioquímicos de conejos NZW, es el 12/12, aunque en el resto de los ciclos estudiados, algunos de ellos se encuentran dentro del intervalo fisiológico.

Palabras clave: Fotoperíodo, Sangre, Parámetros bioquímicos sanguíneos, Conejo, Ritmos circadianos.

Bibliografía

1. Collins, G. R.: Syllabus for the Laboratory Animal Technologist. American Association for Laboratory Animal Science. Joliet, Illinois. 1972.
2. Fox, R. R.: The Clinical Chemistry of Labo-

- ratory Animals. (W. F. Loeb y F. W. Quimby). Pergamon Press. Nueva York. 1989. pp 41-46.
3. Fox, R. R. y Laird, C. W.: *J. Hered.*, 61, 265-268, 1970.
 4. Herzfeld, A. y Knox, W. E.: *Enzyme*, 12, 699-703, 1971.
 5. Illera, J. C., Silván, G. e Illera, M.: *Actas II Congreso S.E.E.A.* León. 1989. A 131.
 6. Kozma, C., Macklin, W., Cummins, L. M. y Mauer, R.: En «The Biology of the Laboratory Rabbit» (Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. and Kraus, A. L., eds.). Academic Press. Nueva York. 1974, pp. 50-72.
 7. Loeb, W. F. y Quimby, F. W.: The Clinical Chemistry of Laboratory Animals. (W. F. Loeb y F. W. Quimby). Pergamon Press. Nueva York. 1989, pp. 417-495.
 8. McGill, M. W. y Rowan, A. N.: *ILAR News*, 31, 5-18, 1989.
 9. Mitruka, B. M. y Rawnsley, H. M.: Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals. Masson Publishing. Nueva York. 1977, pp. 82-84.
 10. Smith, J. E., Wood, P. A. y Moore, K.: *Am. J. Vet. Res.*, 43, 700-701, 1982.
 11. Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. y Kraus, A. L.: En «The Biology of the Laboratory Rabbit» (Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. and Kraus, A. L., eds.). Academic Press. Nueva York. 1974, pp. 35-50.
 12. Wollnik, F.: *Lab. Anim.*, 23, 107-125, 1989.