



FLUCTUACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS NIVELES LIPÍDICOS EN SANGRE DE *RANA CATESBEIANA* (SHAW, 1802)

Coppo, N. B. / Coppo, J. A. / Fioranelli, S. A.

Cátedra de Fisiología General. FCEQyN. UNaM. F. Azara 1552. Posadas (3300),
Misiones, Argentina. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

PHYSIOLOGICAL VARIATION OF BLOOD LIPIDS IN *RANA CATESBEIANA* (SHAW, 1802)

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine plasma lipidogram reference values and sex, age, weight, climate, and breeding and feeding systems physiological modifications in bullfrog, *Rana catesbeiana*. Three hundred two healthy animals (both sexes and 9 to 21 months old), were studied. Reference intervals for triglycerides (0.34-0.52 g/l), total cholesterol (0.56-0.67 g/l), HDL-C (0.03-0.05 g/l), LDL-C (0.34-0.44 g/l), α -lipoprotein (6.01-8.67%) and β -lipoprotein (91.3-93.9%), were obtained. Significant differences between sexes ($p < 0.05$) were not registered. Growth correlated to weight increase ($r = 0.82$, $p = 0.02$). Age increase caused decrease of triglycerides (9 months = 0.62 g/l versus 21 months = 0.24 g/l), cholesterol (0.76 versus 0.54 g/l), HDL-C (0.06 versus 0.03 g/l) and α -lipoprotein (9 versus 5%), as well as increase of β -lipoprotein (91 versus 95%). Triglycerides were significantly lower (0.23 g/l) in the breeding system in which the water covered 90% of the pond floor and the food was supplied floating, than those in which water only covered its 50% (0.47 g/l) and 25% (0.58 g/l); in the last one, food was supplied in the floor. According of the type of food consumed, the extreme changes were verified between the high levels registered with natural diet (lagoon) and the low concentrations found viscera diet (bovine lungs) either for tryglycerides (0.57 versus 0,26 g/l), cholesterol (0,71 versus 0,52 g/l) and LDL-C (0,46 versus 0,29 g/l). In relationship to remaining seasons, significant decreases of triglycerides (0.25 versus 0.59 g/l) and cholesterol (0.59 versus 0.66 g/l) were verified in Winter. Utility of lipidogram to evaluate sanitary, metabolic, and nutritional state is proposed; their application as suitable tool to improve the frog meat production is emphasized.

KEY WORDS: bullfrog, weight, plasma lipids, climate, breeding system, feeding.

RESUMEN

Con el propósito de obtener valores normales para el lipidograma plasmático e indagar modificaciones fisiológicas atribuibles al sexo, edad, peso, clima y sistemas de crianza y alimentación, se estudiaron 302 ejemplares sanos de *Rana catesbeiana*, de ambos sexos y edades de 9 a 21 meses. Se obtuvieron intervalos de referencia para triglicéridos (0.34-0.52 g/l), colesterol total (0.56-0.67 g/l), C-HDL (0.03-0.05 g/l), C-LDL (0.34-0.44 g/l), lipoproteína α (6.01-8.67%) y lipoproteína β (91.3-93.9%). No se verificaron diferencias significativas entre sexos ($p < 0.05$). El crecimiento correlacionó con el aumento de peso ($r = 0.82$, $p = 0.02$). El avance de la edad produjo disminuciones de triglicéridos (9 meses = 0.62 g/l versus 21 meses = 0.24 g/l), colesterol (0.76 versus 0.54 g/l), C-HDL (0.06 versus 0.03 g/l) y lipoproteína α (9 versus 5%), así como aumentos de lipoproteína β (91 versus 95%). Los triglicéridos fueron significativamente más bajos (0.23 g/l) en el sistema de crianza donde el agua ocupó el 90% del piso de las piletas y el alimento se administró flotante, con relación a aquellos donde el agua ocupó solo el 50% (0.47 g/l) y el 25% (0.58 g/l),

siendo el alimento suministrado a piso en el último caso. Según el tipo de alimento consumido, los cambios extremos se constataron entre los altos niveles registrados con dieta natural (laguna) y las bajas concentraciones verificadas en la dieta a base de vísceras (pulmón bovino), tanto para triglicéridos (0.57 *versus* 0.26 g/l), colesterol (0.71 *versus* 0.52 g/l) y C-LDL (0.46 *versus* 0.29 g/l). Con relación al resto de las estaciones del año, en invierno declinaron significativamente los valores de triglicéridos (0.25 *versus* 0.59 g/l) y colesterol (0.59 *versus* 0.66 g/l). Se destaca la utilidad del lipidograma para evaluar estados metabólico, nutricional y sanitario, proponiéndose su aplicación como instrumento idóneo para optimizar la producción de carne de rana.

PALABRAS CLAVES: rana toro, peso, lípidos plasmáticos, clima, sistema de crianza, alimentación.

INTRODUCCIÓN

Metabólicamente, los lípidos desempeñan un rol eminentemente energético, interviniendo además como constituyentes de tejidos y secreciones. Proviene de los alimentos y de la biosíntesis orgánica, siendo eliminados por combustión tisular y excreción biliar. El estudio de los lípidos plasmáticos (lipidograma) habitualmente incluye las determinaciones de triglicéridos, colesterol total, lipoproteínas α (HDL), pre- β (VLDL) y β (LDL), así como la concentración de colesterol ligado a dos de dichas lipoproteínas (C-HDL y C-LDL) [1, 2, 3].

Las lipoproteínas posibilitan el transporte de triglicéridos, colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos a través del medio acuoso plasmático, solubilizándolos por medio de proteínas. Son partículas esféricas que poseen un núcleo de lípidos neutros, compuesto por triglicéridos y ésteres de colesterol, y una superficie donde las apoproteínas se asocian con colesterol y fosfolípidos. Las principales clases de lipoproteínas aisladas por electroforesis han sido denominadas mediante un sistema análogo al utilizado para otras proteínas plasmáticas, como α , β y pre- β lipoproteínas. Cuando son separadas sobre la base de la densidad de ultracentrifugación, las clases se denominan por sus densidades relativas: lipoproteínas de alta densidad (HDL), de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL) [4, 5, 6].

El metabolismo lipoproteico revela características similares entre especies animales, pero no es exactamente igual en todas ellas. Caninos, felinos, equinos, rumiantes y algunos roedores poseerían “patrón HDL”, caracterizado por el predominio de lipoproteína α en el plasma. Cuando estos animales son alimentados con dietas grasas, el colesterol es captado por HDL (en lugar de LDL), evitándose efectos nocivos debido a la acción protectora atribuible a HDL. Seres humanos, cerdos, conejos, marmotas y varias especies de monos, responderían al “patrón LDL”, caracterizado por el aumento de lipoproteína

β y mayor riesgo aterogénico, cuando se consumen dietas grasas [1, 4].

Frecuentemente, el aumento de las calorías de la dieta es acompañado por el incremento de las grasas corporales y la elevación de triglicéridos y colesterol en sangre, así como por modificaciones de lipoproteínas plasmáticas [7, 8]. Aún existen escasos conocimientos acerca de las concentraciones plasmáticas y variaciones fisiológicas de los lípidos y lipoproteínas en *Rana catesbeiana*, anfibio caracterizado por poseer muy escasa grasa corporal [9].

La “rana toro” (*bullfrog*) se ubica taxonómicamente en el orden *Anuros*, familia *Ranidae* y su apelativo se debe a que el macho emite (croa) un *rugido* semejante al del toro durante la época reproductiva [10]. Es originaria de América del Norte y se caracteriza por su gran tamaño, alcanzando la adultez a los 12 meses, con pesos de hasta 300 g (30 cm de longitud). Su carne es comestible y se comercializa con alto precio, por lo cual la cría de este anfibio viene adquiriendo importancia en nuestro país desde finales de la década de 1980 [9].

El desarrollo de *Rana catesbeiana* comprende una fase acuática que comienza con la etapa de *larva* (6 mg de peso) y prosigue con la de *renacuajo*, de 1 g de peso, respiración branquial, corazón de dos cavidades y alimentación sobre la base de plancton, algas y microorganismos. Luego de atravesar varios estadios, por metamorfosis se transforma en *imago* (40 g, respiración pulmonar, corazón de tres cavidades), iniciando la fase anfibia de su ontogénesis [10, 11, 12]. La metamorfosis parece depender de las acciones de la tiroxina [13] e implica cambios como resorción de la cola, aparición de patas delanteras, párpados y tímpanos, desaparición de las branquias, ensanchamiento de la boca y desarrollo de la lengua, que –fija por delante– será desplegada (disparada) para atrapar insectos. No menos importantes serán los cambios conductuales y bioquímicos para hacer frente al cambio de vida (acuática por anfibia) [14, 15]. Durante la

metamorfosis, los anfibios modifican dramáticamente (*sic*) su aparato digestivo, apareciendo enzimas proteolíticas como pepsina, tripsina y quitinasas gástricas [16].

Por ser ectotermos, los anfibios regulan su tasa metabólica –y por ende su ritmo de crecimiento– acorde a la temperatura ambiente; cuando esta desciende a menos de 10-15°C, las ranas dejan de alimentarse y entran en vida letárgica, utilizando como fuente de energía “cuerpos adiposos” periováricos [9, 10, 12]. Se afirma que en los animales poiquilotermos, el frío extremo induciría la síntesis de lípidos de bajo índice de saturación, con lo cual se evitaría que los panículos adiposos se endurezcan o solidifiquen; en los anfibios, previamente a la hibernación aumentaría la síntesis de grasa, a partir de la cual obtendrían agua (cada gramo de grasa aportaría un gramo de agua) [17].

Son animales que se adaptan a la vida en cautiverio, revelando excelentes condiciones de rusticidad, precocidad y prolificidad. En los criaderos, *Rana catesbeiana* es faenada a los 6-7 meses de vida, cuando ha alcanzado pesos de 170 g, de los cuales 60 g corresponden al “anca”. Su carne estaría exenta de colesterol y contendría más proteínas y hasta tres veces menos cantidad de grasa que el filete de merluza; análisis realizados indicarían que los porcentajes de proteínas y lípidos serían respectivamente de 18 y 0,4% para la carne de rana y de 16 y 1,4% para el filete de merluza, afirmándose que la proteína del anfibio dispondría de todos los aminoácidos esenciales [9, 10, 12]. El consumo mundial de carne de rana oscila entre 30.000 y 50.000 tn/año, existiendo también un mercado para el cuero (marroquinería), intestino (hilo para cirugía estética), hígado (elaboración de paté) y grasa (uso cosmético) [11, 12, 18]. Actualmente en nuestro país existirían unos 200 ranarios funcionando [12], varios de ellos en la provincia de Misiones.

El objetivo de este estudio fue obtener valores de referencia para el lipidograma plasmático de *Rana catesbeiana*, así como verificar eventuales variaciones fisiológicas atribuibles al sexo, edad, peso, clima (época del año) y sistemas de crianza y alimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales, alimentación y manejo

A lo largo de dos años de estudios, se utilizaron en total 302 ejemplares de *Rana catesbeiana* clínicamente sanos. Doscientos setenta fueron anfibios mantenidos en sistemas intensivos, en tres distintos criaderos del Nordeste argentino. De cada uno de estos ranarios (anfigranjas) se tomaron muestras a 90 ejemplares de distintas

edades, conformándose 12 grupos de 7-8 animales cada uno (edades de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 y 21 meses), 50% de cada sexo y pesos entre 50 y 350 g. El 36% de las muestras se tomó en invierno y el 64% en las restantes estaciones del año. Ninguno de los criaderos utilizó calefacción durante la temporada invernal y todos administraron alimento a razón del 3-5% del peso vivo/día.

En el establecimiento situado en Oberá (Misiones), el agua provino de vertientes naturales y ocupó el 25% de la superficie de las piletas; el alimento (alimento 1) consistió en *pellets* balanceados para peces (45% de proteínas), administrado “en seco” (esparcido sobre el piso), esporádicamente acompañado por lombrices.

El agua del criadero de Paso de la Patria (Corrientes) era subterránea, extraída de la segunda napa a partir de una perforación, y ocupó el 50% de las piletas; las ranas se alimentaron con *pellets* balanceados flotantes en el agua (38% de proteínas), ocasionalmente adicionando larvas de moscas (alimento 5).

El criadero de Jardín América (Misiones) poseía agua surgente por gravedad, la cual ocupó el 90% de las piletas y se utilizó para vehiculizar el alimento flotante. Durante el primer año la ingesta de los batracios (alimento 4) fue una mezcla a partes iguales de vísceras de bovino (pulmón molido, “bofe”, 16% de proteínas) y *pellets* balanceados (45% de proteínas), y durante el segundo año se administraron tales vísceras como único alimento (alimento 3).

Los 32 ejemplares restantes provenían del establecimiento mencionado en primer término, pero el sistema de manejo fue extensivo (semicautiverio), pues las ranas se criaron en una laguna, seleccionando exclusivamente alimentos “naturales” (alimento 2). Se trató de animales adultos (16-20 meses de edad), de ambos sexos, a quienes se extrajeron muestras tanto en invierno como en el resto de las temporadas del año.

Toma de muestras

Las ranas fueron trasladadas al laboratorio en cajas térmicas que contenían una solución isotónica de NaCl al 0.6% enfriada con hielo (2-3°C), procedimiento que las insensibiliza y aletarga [10], facilitando su manipulación. El peso vivo se obtuvo en una balanza electrónica Scientech-SL, con precisión de 0.01 g. Las muestras se tomaron en horario matutino (7-8 AM), tras un período de ayuno de 24 horas.

La extracción de sangre se realizó con jeringa y aguja, por punción intracardíaca, obteniéndose una mezcla de sangres venosa y arterial, dada la característica anatómica de la existencia de un ventrículo único [15, 19].

Antes de las dos horas post-extracción la sangre fue centrifugada para separar el coágulo y obtener suero.

Determinaciones de laboratorio

En un espectrofotómetro L.Mannheim 4010 UV-visible, con cubeta semimicro de cuarzo (1 cm de paso de luz) termostaticada a 37°C, con reactivos Wiener Lab, se realizaron las determinaciones de triglicéridos (método de la lipasa-peroxidasa, lecturas a 505 nm) y colesterol total (técnica de la colesterol-oxidasa/peroxidasa, 505 nm) [20]. El colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) y de baja densidad (C-LDL) fue valorado por precipitación selectiva de la lipoproteína y valoración enzimática del colesterol por el método antes mencionado.

Mediante electroforesis en soporte de gel de agarosa (con buffer de veronal y coloración Fat Red 7B, reactivos Biopur) [3], se separaron las lipoproteínas α y β que fueron luego cuantificadas en un densitómetro Citocon CT-440 automático, provisto de impresora de curvas y valores.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, donde las variables independientes fueron edad, sexo, peso, época del año y sistemas de alimentación y manejo (según procedencia), considerando como variables dependientes (cuantitativas continuas) a los valores del lipidograma. La simetría de la distribución fue verificada mediante el test de Wilk-Shapiro (WS). Las estadísticas paramétricas incluyeron medidas de tendencia central (media aritmética, \bar{x}) y dispersión (desvío estándar, DE). La probabilidad fiducial fue evaluada mediante intervalos de confianza ($IC \pm 95\%$). El análisis de la variancia (ANOVA) se efectuó por modelo lineal a una vía, previa constatación de la homogeneidad de la variancia mediante test de Bartlett. En los casos en que el ANOVA resultó significativo ($p < 0.05$), se aplicó la prueba de compa-

raciones de medias (Tukey). El grado de asociación lineal se estableció por correlación (test de Pearson). Los análisis estadísticos se efectuaron con el auxilio de un programa informático (*Statistix 1996*). Para todas las inferencias se estipuló un $\alpha = 5\%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se detallan los valores obtenidos para la totalidad de los anfibios estudiados. La distribución aproximadamente simétrica de los valores (WS), permitió el uso de estadísticas paramétricas. Los intervalos de confianza se ajustaron en cercanías de las medias aritméticas, pero los rangos individuales resultaron amplios, en coincidencia con reportes que aseveran una gran variación de los analitos sanguíneos en los anfibios, debido tanto a sus escasos mecanismos de regulación como a su mayor tolerancia a las hemodiluciones y hemoconcentraciones [15].

En los mamíferos, la lipemia aumenta en la etapa postprandial, pudiendo permanecer elevada durante 7-8 horas [1]. En los anfibios también se registrarían cambios de la concentración plasmática de varios analitos después de la ingestión de alimentos [21]. En el presente estudio el *efecto postprandial* quedó marginado del diseño debido al ayuno previo, y el *ritmo circadiano* se soslayó porque la toma de muestras se efectuó en horario matutino uniforme (condiciones basales).

Comparativamente, con excepción de la tasa de lipoproteína β , los valores registrados en ranas resultaron más bajos que los niveles reportados para el ser humano [3, 20, 22] y los carnívoros [23, 24], inscribiéndose más cercanos a los guarismos habituales en los rumiantes [1, 24]. Expresando los valores absolutos de C-HDL y C-LDL (determinados por espectrofotometría) en porcentajes (9 y 91% respectivamente), surge que dichas proporciones resultaron muy semejantes a las obtenidas (por

Tabla 1: valores obtenidos para la población total estudiada

parámetro	$\bar{x} \pm DE$	WS	IC $\pm 95\%$	rango
triglicéridos (g/l)	0.43 \pm 0.10	0.938	0.34 - 0.52	0.02 - 1.26
colesterol total (g/l)	0.62 \pm 0.14	0.927	0.56 - 0.67	0.30 - 1.18
C-HDL (g/l)	0.04 \pm 0.01	0.923	0.03 - 0.05	0.01 - 0.10
C-LDL (g/l)	0.39 \pm 0.09	0.949	0.34 - 0.44	0.18 - 0.83
lipoproteína α (%)	7.34 \pm 1.85	0.921	6.01 - 8.67	2.00 - 24.6
lipoproteína β (%)	92.65 \pm 4.62	0.930	91.3 - 93.9	75.4 - 98.0

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk-Shapiro (valor en Tabla W: 0.947 para $\alpha = 0.05$), IC: intervalo de confianza. C-HDL y C-LDL: colesterol asociado a lipoproteínas de alta y baja densidad.

electroforesis) para sus respectivas lipoproteínas transportadoras (7 y 93% respectivamente). Teniendo en cuenta que el nivel de C-LDL fue mayor que el de C-HDL y que la tasa de lipoproteína α fue menor que la de lipoproteína β , estos animales presuntivamente encuadrarían en el “patrón LDL” antes que en el “patrón HDL” [1, 4].

Los anfibios estarían más emparentados filogenéticamente con las aves que con los mamíferos. En el plasma de las aves, el colesterol total asumiría niveles de 0.8-1.3 g/l, algo más altos que los hallados en las ranas del presente estudio. Se afirma que en las aves el colesterol aumentaría en esteatosis hepáticas, hipotiroidismo y dietas ricas en grasas, aunque también se elevaría en la fase inicial de la inanición (debido a mayor movilización y transporte sanguíneo), pues si el ayuno se prolonga su concentración plasmática disminuiría. La hipocolesterolemia también podría deberse a mala absorción, inflamación hepática e infecciones [2]. Según otros, la colesterolemia de las aves (1-2 g/l) se modificaría por la edad, herencia, nutrición y diversas enfermedades, principalmente hepáticas, declinando por disminución de la lipogénesis. La anemia ferropénica del pollo se acompañaría de hiperlipidemia debido a la reducción de la actividad de LPL (lipoproteinlipasa), necesaria para el depósito tisular de grasas. Mientras que los mamíferos transportan los lípidos absorbidos en el intestino a través de quilomicrones, las aves lo harían mediante VLDL [23].

En los mamíferos, las lipoproteínas se sintetizan en intestino e hígado [1, 22]. En lugar de hígado, las ranas poseen un voluminoso hepatopáncreas que segrega bilis a través de una vesícula biliar [15, 17]; las proteínas capaces de ligar ácidos grasos serían sintetizadas en dicho órgano [25].

En plasma de sapos *Bufo sp* (n = 26) se hallaron valores de colesterol total (0.9-1.8 g/l) ligeramente superiores a los aquí obtenidos; las concentraciones de triglicéridos (0.3-0.7 g/l) resultaron más semejantes a las encontradas en ranas [1]. Algunos investigadores afirman haber detectado VLDL en plasma de *Rana catesbeiana*, aunque en muy escasa proporción [26]; en el presente estudio no se detectó dicha fracción, quizás debido a la sensibilidad del método utilizado. Coincidentemente, la proporción de LDL habría resultado muy superior a la de HDL, en cuya composición se habrían reconocido triglicéridos (3.7%), ésteres de colesterol (19.3%), colesterol (11.9%), fosfolípidos (25.2%) y proteínas (36.8%) [26].

En ranas sexualmente maduras, el aumento de estrógenos (temporada reproductiva) provocaría liberación de una lipoproteína adicional hacia el plasma, la *vitelogenina* gonadal, incrementando hasta tres veces la concentración proteica y elevando la viscosidad plasmática. Sin embargo, no resultarían afectadas la viscosidad de los eritrocitos aglomerados, su deformabilidad ni su capacidad de agregación [27].

La Tabla 2 muestra que tanto triglicéridos como colesterol total disminuyeron paulatina pero significati-

Tabla 2: diferencias según edad

edad (meses)	TG (g/l)	CT (g/l)	Σ_c (g/l)	C-HDL		C-LDL		LP α %	LP β %
				g/l	%	g/l	%		
9	0.62 ^a	0.76 ^a	0.60	0.06 ^{ab}	10	0.54 ^{ab}	90	9 ^a	91 ^a
10	0.71 ^a	0.79 ^a	0.66	0.07 ^a	11	0.59 ^a	89	10 ^b	90 ^a
11	0.49 ^{ab}	0.60 ^b	0.55	0.05 ^{ab}	9	0.50 ^{ab}	91	8 ^{ab}	92 ^{ab}
12	0.55 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.47	0.06 ^{ab}	13	0.41 ^b	87	9 ^a	91 ^a
13	0.53 ^{ab}	0.55 ^{bc}	0.41	0.04 ^{ab}	10	0.37 ^{bc}	90	8 ^{ab}	92 ^{ab}
14	0.44 ^b	0.67 ^{ab}	0.43	0.05 ^{ab}	12	0.38 ^b	88	6 ^b	94 ^b
15	0.47 ^{ab}	0.59 ^b	0.44	0.04 ^{ab}	9	0.40 ^b	91	8 ^{ab}	92 ^{ab}
16	0.41 ^b	0.61 ^b	0.36	0.04 ^{ab}	11	0.32 ^c	89	8 ^{ab}	92 ^{ab}
18	0.29 ^{bc}	0.55 ^{bc}	0.43	0.05 ^{ab}	12	0.38 ^b	88	5 ^b	95 ^b
19	0.36 ^b	0.62 ^b	0.36	0.02 ^a	6	0.34 ^{bc}	94	7 ^{ab}	93 ^{ab}
20	0.20 ^{bc}	0.51 ^c	0.33	0.02 ^a	6	0.31 ^c	94	5 ^b	95 ^b
21	0.24 ^{bc}	0.54 ^{bc}	0.35	0.03 ^{ab}	9	0.32 ^c	91	5 ^b	95 ^b

TG: triglicéridos, CT: colesterol total, Σ_c : sumatoria C-HDL+ C-LDL, LP: lipoproteína. En cada columna, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, p < 0.05).

vamente con el incremento de la edad, en oposición a los cambios que ocurren en el ser humano [3, 20, 22, 28] y en algunos animales domésticos [1, 29]. Efectuando las sumatorias de C-HDL y C-LDL para cada edad, surge que los valores resultantes también tienden a descender a medida que aumenta la edad, acompañando la declinación del colesterol total. En efecto, tal sumatoria fue de 0.52 g/l para las edades comprendidas entre 9 y 14 meses, descendiendo a 0.38 g/l para las edades entre 15 y 21 meses. Cabe destacar que la sumatoria de C-HDL + C-LDL nunca es exactamente igual al colesterol total, debido a que parte del colesterol es transportado por quilomicrones y otras lipoproteínas [1, 3, 20] que por su escasa magnitud no aparecen en la corrida electroforética sobre gel de agarosa.

En consonancia con la declinación de colesterol total, el avance del crecimiento se tradujo en significativas disminuciones de C-HDL, tanto en valores absolutos (9-14 meses = 0.055 g/l *versus* 15-21 meses = 0.033 g/l) como relativos (9-14 meses = 10.8% *versus* 15-21 meses = 8.8%). Tales cambios correlacionaron con el descenso de la fracción transportadora de C-HDL (lipoproteína α), que fue de 8.3% entre las edades de 9 a 14 meses, y de 6.3% entre los 15 y 21 meses. En términos absolutos (concentración), C-LDL también descendió acompañando la declinación de colesterol total (9-14 meses = 0.465 g/l *versus* 15-21 meses = 0.345 g/l); pero en términos relativos (porcentaje de la sumatoria Σ) aumentó desde 89% (9-14 meses) hasta 91% (15-21 meses), en consonancia con el aumento de su proteína transportadora (lipoproteína β), cuya tasa fue de 91.7% entre las edades de 9 a 14 meses, incrementándose a 93.7% entre las edades de 15 a 21 meses. Análogamente, durante el crecimiento de terneros también se registraría disminución de lipoproteínas α e incremento de lipoproteínas β en el plasma [1].

El crecimiento de la rana toro estaría condicionado tanto por la disponibilidad de alimento como por la temperatura ambiente, que es la responsable del nivel del metabolismo en los animales ectotermos [10]. Durante el crecimiento de los mamíferos, la concentración de ácidos grasos libres estaría elevada en el plasma [1].

La Tabla 3 destaca que si bien los machos revelaron mayores niveles de colesterol total y C-LDL que las hembras, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. En el ser humano es habitual que los varones registren concentraciones más elevadas de colesterol, C-LDL, lipoproteína β y triglicéridos que las mujeres, debido a acciones hormonales [1, 3, 28]. El aumento del peso vivo se correspondió con significativas elevaciones de lipoproteína β , así como significativos descensos de lipoproteína α , triglicéridos, colesterol total, C-HDL y C-LDL. Tales cambios se atribuyen a la ontogenia, ya que al aumentar la edad se incrementó significativamente el peso de los animales, con alta correlación ($r=0.82$, $p=0.02$).

La rana toro ganaría peso en forma directamente proporcional a la cantidad de alimento que recibe [10]. Con dietas isocalóricas de creciente contenido proteico (25, 30, 35, 40 y 45% de proteína cruda), las mayores ganancias de peso se obtuvieron con 40% de proteínas; sin embargo, el contenido de grasa corporal correlacionó negativamente con el incremento de la proteína alimentaria [30].

En la Tabla 4 se exhiben otras correlaciones significativas verificadas entre los parámetros lipídicos con la edad y el peso. Se destaca que, a excepción de las lipoproteínas β (que ascendieron ante el avance de edad y peso), el resto de los analitos reveló asociaciones lineales de signo negativo (declinantes ante el incremento de peso y edad). Los valores de C-LDL correlacionaron significativamente con los de colesterol total ($r=0.75$, $p=0.001$).

Tabla 3: diferencias según sexo y peso vivo

parámetro	sexo		peso vivo (g)					
	machos	hembras	50-99	100-149	150-199	200-249	250-299	300-349
triglicéridos (g/l)	0.40 ^a	0.45 ^a	0.54 ^a	0.51 ^a	0.46 ^{ab}	0.36 ^b	0.38 ^b	0.29 ^c
colesterol t. (g/l)	0.65 ^a	0.59 ^a	0.69 ^a	0.71 ^a	0.67 ^a	0.57 ^b	0.58 ^b	0.49 ^c
C-HDL (g/l)	0.04 ^a	0.04 ^a	0.06 ^a	0.04 ^{ab}	0.05 ^{ab}	0.04 ^{ab}	0.02 ^b	0.03 ^{ab}
C-LDL (g/l)	0.41 ^a	0.36 ^a	0.48 ^a	0.51 ^a	0.39 ^b	0.40 ^b	0.34 ^b	0.29 ^b
lipoprot. α (%)	7.19 ^a	7.42 ^a	11.1 ^a	8.3 ^a	9.2 ^a	5.0 ^b	4.8 ^b	6.1 ^b
lipoprot. β (%)	91.6 ^a	94.9 ^a	88.8 ^a	91.9 ^a	90.8 ^a	95.0 ^b	95.1 ^b	93.7 ^b

En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0.05$).

Tabla 4: correlaciones obtenidas entre analitos plasmáticos, edad y peso

parámetro	edad (meses)			peso vivo (g)		
	r	p	tendencia	r	p	tendencia
triglicéridos (g/l)	-0.93	0.0001	↓	-0.96	0.001	↓
colesterol total (g/l)	-0.76	0.04	↓	-0.93	0.006	↓
C-HDL (g/l)	-0.80	0.01	↓	-0.83	0.04	↓
C-LDL (g/l)	-0.85	0.001	↓	-0.93	0.006	↓
lipoproteína α (%)	-0.84	0.005	↓	-0.83	0.03	↓
lipoproteína β (%)	0.84	0.005	↑	0.81	0.05	↑

r: correlación (Pearson), p: significancia, ↑: incrementativa, ↓: declinante.

La Tabla 5 revela que los valores significativamente más bajos de triglicéridos, colesterol total y C-LDL se registraron en ranas alimentadas con vísceras (pulmón bovino molido), seguidos de cerca por los ejemplares mantenidos con tales vísceras + *pellets* balanceados. Los valores más altos de dichos analitos ocurrieron en los animales que seleccionaron su alimento a libre albedrío (laguna), siendo intermedios los restantes. Teniendo en cuenta que los parámetros lipídicos son indicadores nutricionales que varían según la ingesta [1, 2, 3, 24], es probable que los cambios verificados se deban a la calidad y/o digestibilidad de los alimentos suministrados.

En tal sentido, carencias dietarias y agotamiento de reservas adiposas, así como alarmas simpáticas y disminuciones rigurosas de temperatura ambiental, provocan hipolipemia en los mamíferos [1]. En renacuajos de *Rana catesbeiana*, dietas con 38.6% de proteína bruta y niveles crecientes de energía digestible (ED = 3,627; 3,693; 3,758; 3,823; 3,889 y 3, 954 Kcal/kg), produjeron aumentos de la relación adiposo/somática de la carcasa, directamente proporcionales al contenido de energía del alimento [31]. En el presente ensayo también hubo diferencias atribuibles al sistema de manejo de los criaderos,

resultando significativamente bajos los niveles de triglicéridos en las ranas procedentes de Jardín América, donde el alimento se administró flotando en el agua.

Aparentemente, el consumo de alimentos “naturales” se traduciría en mayores niveles energéticos en sangre. Infortunadamente, *Rana catesbeiana* es considerada como *huésped indeseable* en las lagunas, porque su voraz apetito no tardaría en aniquilar a la fauna acuática original; el canibalismo no resultaría inusual en esta especie [10, 11]. Las necropsias permitieron verificar que el tubo digestivo de las ranas bajo estudio contenía pequeños peces, otras ranas y renacuajos, cangrejos, miriápodos, coleópteros y hemípteros acuáticos, así como abundante pasto.

Se asevera que el tubo digestivo de estos anuros es semejante al de los carnívoros y que –en vida libre– se alimentarían de insectos, anélidos, crustáceos, moluscos y pequeños vertebrados [13, 17]. En el Nordeste argentino, la dieta natural de anuros como *Bufo sp* estaría principalmente constituida por coleópteros e himenópteros [32]. Desde el punto de vista digestivo los renacuajos se comportarían como vegetarianos [15, 19], registrando cierto grado de coprofagia en los criaderos [33].

Tabla 5: diferencias según tipo de alimento y manejo del criadero (procedencia)

parámetro	tipo de alimento					Procedencia		
	1	2	3	4	5	Oberá	J. América	P. Patria
triglicéridos (g/l)	0.51 ^a	0.57 ^a	0.26 ^b	0.28 ^b	0.49 ^a	0.58 ^a	0.23 ^b	0.47 ^a
colesterol t. (g/l)	0.65 ^a	0.71 ^a	0.52 ^b	0.57 ^b	0.67 ^a	0.69 ^a	0.57 ^a	0.61 ^a
C-HDL (g/l)	0.04 ^a	0.05 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a
C-LDL (g/l)	0.45 ^a	0.46 ^a	0.29 ^b	0.33 ^b	0.43 ^a	0.42 ^a	0.36 ^a	0.39 ^a
lipoprot. α (%)	9.6 ^a	8.7 ^a	5.8 ^a	6.6 ^a	7.1 ^a	8.6 ^a	6.4 ^a	6.7 ^a
lipoprot. β (%)	90.3 ^a	91.5 ^a	94.1 ^a	93.2 ^a	93.0 ^a	91.5 ^a	93.4 ^a	93.2 ^a

1: balanceado + lombrices, 2: natural, 3: vísceras, 4: balanceado + vísceras, 5: balanceado + larvas. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, p < 0.05).

Una de las prioridades actuales es evaluar científicamente el tipo de alimento administrado a las ranas, pues hasta ahora las formulaciones se realizaron empíricamente a partir de la composición utilizada para peces carnívoros como las truchas. No existirían estudios que relacionen el tipo de alimento con los indicadores nutricionales del medio interno [18]. Son necesarias investigaciones que establezcan las verdaderas exigencias nutricias de esta rana, lo cual se traduciría en mayores ganancias económicas para los productores [10, 11].

Tabla 6: diferencias según época del año

parámetro	Temporada	
	invierno	resto del año
triglicéridos (g/l)	0.25 ^a	0.59 ^b
colesterol t. (g/l)	0.59 ^a	0.66 ^b
C-HDL (g/l)	0.04 ^a	0.04 ^a
C-LDL (g/l)	0.37 ^a	0.42 ^a
lipoprot. α (%)	7.1 ^a	7.5 ^a
lipoprot. β (%)	92.8 ^a	92.5 ^a

En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La Tabla 6 indica que durante el invierno las ranas registraron valores significativamente más bajos de triglicéridos y colesterol total, con relación al resto de las estaciones del año. También fueron más bajos los niveles de C-LDL y lipoproteína α , sin significación estadística. Estos hallazgos se deberían a que durante la temporada de frío riguroso los anfibios se aletargan y dejan de alimentarse [10, 17, 19]. El ayuno prolongado provocaría disminución de la concentración plasmática de colesterol [2]. El descenso de los lípidos sanguíneos quizás deba también relacionarse al hecho que previamente a la hibernación aumentaría la síntesis de grasa de depósito [17], causando depleción de los triglicéridos plasmáticos. Las ranas regularían su tasa metabólica acorde a la temperatura ambiental [12, 13], disminuyendo los nutrientes energéticos del plasma durante la hibernación [17, 34, 35].

Tanto el clima como la alimentación provocarían variaciones hormonales en las ranas. En verano y durante el ayuno disminuiría la tasa de melatonina plasmática, sin ser afectados los niveles de cortisol ni aldosterona, en tanto que el ayuno aceleraría la metamorfosis por aumento de tiroxina [36]. Estudios efectuados en *Bufo americanus* indicaron que a temperaturas elevadas la captación de O_2 por piel sería mayor que la efectuada por pulmones, y vi-

ceversa; en cambio, para la excreción de CO_2 , siempre sería más importante la piel, a cualquier temperatura [15, 19]. Los cambios climáticos estacionales generarían respuestas de acomodación cardiorrespiratoria y afectarían marcadamente el consumo de O_2 , así como la tasa de glucosa plasmática en los anfibios [34, 35]. Algunas ranas hibernarían sumergidas, por lo que O_2 y CO_2 se intercambiarían a través de la piel. *Rana esculenta* sería capaz de sobrevivir 2-3 semanas sumergida; *Rana catesbeiana* tendría poco desarrollado este mecanismo y no sobreviviría mucho tiempo, quizás debido a su gran tamaño [17].

Los resultados obtenidos son concordantes con trabajos que reportan liberación de insulina en anfibios sometidos a baja temperatura [37]. En los mamíferos, la insulina transforma el exceso de glúcidos a triglicéridos, depositándolos en tejido adiposo e hígado; en ausencia de la hormona la grasa corporal libera ácidos grasos libres para uso energético, elevándose todos los lípidos sanguíneos [22]. En los anuros, las funciones de la insulina serían similares, liberándose por acción de carbohidratos metabolizables como glucosa, manosa y fructosa; en cambio, no provocarían secreción de insulina otros monosacáridos no metabolizables como galactosa y 2-desoxiglucosa [37]. En las ranas adultas, la reserva energética para el invierno se almacenaría en los “cuerpos grasos” contiguos a las gonadas; estos panículos lipídicos serían grandes en otoño y pequeños en primavera [19].

El lipidograma podría constituir un instrumento valioso en la detección de trastornos nutricionales y metabólicos (hepatopancreáticos) de la rana toro. Los principales problemas sanitarios de este anfibio derivarían de la malnutrición, inadecuado manejo y enfermedades transmisibles, muchas de las cuales afectarían al hepatopáncreas, el cual sería también susceptible a diversas intoxicaciones [10].

CONCLUSIONES

Se establecen valores de referencia para triglicéridos (0.43 ± 0.10 g/l), colesterol total (0.62 ± 0.14 g/l), C-HDL (0.04 ± 0.01 g/l), C-LDL (0.39 ± 0.09 g/l), lipoproteína α ($7.34 \pm 1.85\%$) y lipoproteína β ($92.65 \pm 4.62\%$) en *Rana catesbeiana*. El avance de la edad correlacionó con el aumento de peso y con las disminuciones de triglicéridos, colesterol, C-HDL y lipoproteína α , así como el aumento de lipoproteína β , sin diferencias significativas entre sexos. Los triglicéridos resultaron más bajos en el sistema de manejo que empleó la administración de alimento flotante en el agua. Colesterol, C-LDL y triglicéridos alcanzaron valores altos con dieta natural (laguna) y valo-

res bajos con alimentos no balanceados (vísceras). En invierno declinaron significativamente los niveles de triglicéridos y colesterol total.

AGRADECIMIENTOS

A los propietarios de los establecimientos de Oberá, Jardín América y Paso de la Patria, por su desinteresada colaboración. A Wiener Lab por suministrar los reactivos utilizados en el estudio.

REFERENCIAS

1. Coppo, J. A. *Fisiología Comparada del Medio Interno*. Ed. Dunken, Buenos Aires, p. 205-294, 2001.
2. Gómez Piquer, J. *Manual Práctico de Análisis Clínicos*, Ed. Mira, Zaragoza, p. 97-417, 1992.
3. Kalinov, A. *El Laboratorio, Interpretación Semiológica*, Ed. López, Buenos Aires, p. 553-568, 1984.
4. Bauer, J. E. *Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas*. *Pet's Cienc.* 13: 362-376, 1997.
5. Kaneko, J. J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Academic Press, San Diego, p. 54-90, 1989.
6. Tavella, M. *Partículas lipoproteicas*. *Acta Bioq. Clín. Latin.* 27: 75-85, 1993.
7. Coppo, J. A.; Coppo, N. B. *Nutritional indicators changes and organic damages in cottonseed supplemented steers*. *Facena* 14: 1-6, 1999.
8. Coppo, J. A. *Effect of dietary lipidic charge in the concentration of bovine plasmatic lipids and lipoproteins*. *Acta Physiol. Pharm.* 40: 289-297, 1990.
9. Pavan, M. *Carne de rana toro. El batracio versus la merluza*. *Vet. Arg.* 13: 741-742, 1996.
10. Lima, S. L.; Agostinho, C. A. *A Criação de Rás*, Ed. Globo, Río de Janeiro, p. 5-188, 1988.
11. Longo, A. D. *Manual de Ranicultura*, Ed. Icone, Sao Paulo, p. 58-201, 1985.
12. Roman, L. R. *Ranicultura. Nueva tecnología de la cría de rana toro*. *Anales VII Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias*, Buenos Aires, p. 190-198, 1994.
13. Eckert, R.; Randall, D.; Augustine, G. *Fisiología Animal*, Interamericana, Madrid, p. 35-596 1992.
14. Werner, E. E.; Wellborn, G. A.; McPeck, M. A. *Diet composition in postmetamorphic bullfrogs: implications for interspecific predation and competition*. *J. Herpetol.* 29: 600-607, 1995.
15. Goldstein, L. *Fisiología Comparada*. Interamericana, México, p. 176-436, 1982.
16. Hourdry, J.; Lhermite, A.; Ferrand, R. *Changes in the digestive tract and feeding behavior of anuran amphibians during metamorphosis*. *Physiol. Zool.* 69: 219-251, 1996.
17. Hill, R. W. *Fisiología Animal Comparada*, Ed. Reverté, Barcelona, p. 18-179, 1980.
18. Carnevia, D. *Ranicultura, estado actual de la explotación y comercialización de ranas para consumo*. *Anales de las VIII Jornadas Veterinarias de Corrientes*, p. 18-22, 1995.
19. Vilee, C. A. *Biología*. McGraw-Hill, México, p. 275-472, 1997.
20. Pesce, A. J.; Kaplan, L. A. *Methods in Clinical Chemistry*. Mosby, St. Louis, p. 1149-1223, 1990.
21. Busk, M.; Jensen, F. B.; Wang, T. *Effects of feeding on metabolism, gas transport, and acid-base balance in the bullfrog, Rana catesbeiana*. *Am. J. Physiol.* 278: 185-195, 2000.
22. Guyton, A. C.; Hall, J. E., *Fisiología y Fisiopatología*. McGraw-Hill, México, p. 545-617, 1999.
23. Coles, E. H. *Veterinary Clinical Pathology*, Saunders, Philadelphia, p. 114-166, 1986.
24. Kolb, E. *Fisiología Veterinaria*, Acribia, Zaragoza, p. 426-442, 1987.
25. Baba, K.; Abe, T. K.; Tsunasawa, S.; Odani, S. *Characterization and primary structure of a fatty acid-binding protein of the Amphibia, Rana catesbeiana*. *J. Biochem.* 125: 115-122, 1999.
26. Suzuki, N.; Deguchi, K.; Ueta, N.; Nagano, H.; Shukuya, R. *Chemical characterization of the serum VLDL and HDL from bullfrog, Rana catesbeiana*. *J. Biochem.* 80: 1241-1246, 1976.
27. Saunders, D. K.; Fowler, O.; Smalley, K. N. *The effects of estradiol treatment on the blood viscosity of the bullfrog Rana catesbeiana*. *Trans. Kansas Acad. Sci.* 10: 38-45, 2000.
28. Coppo, J. A.; Coppo, N. B. *Evolución de valores de la bioquímica clínica conforme avanza el envejecimiento. Estudio en población del nordeste argentino*. *Prensa Méd. Arg.* 87: 717-727, 2000.
29. Coppo, J. A.; Coppo, N. B.; López, J. J.; Jovanovics, L. *Modificaciones de los analitos sanguíneos en el perro ovejero alemán provocadas por la edad avanzada*. *Selecc. Vet.* 6: 540-544, 1998.
30. Boonman, C.; Kaewmanee, C.; Kaewluan, W.; Jiewprasat, K. *Study on dietary protein requirement*

- for bullfrog (*Rana catesbeiana*). Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Fishery Station, Mae Hong Son. <http://www.agri.ubu.ac.th/research/bullfrog.html>, 2002.
- 31. Albinati, R. C.; Lima, S. L.; Donzele, J. L.** *Níveis de energia digestível na ração de girinos de rã-touro*. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 2: 48-52; 2001.
- 32. Duré, M. I.; Kehr, A. I.** *Explotación diferencial de los recursos tróficos en cuatro especies de bufonidos del nordeste argentino*. Actas Cienc. & Técn.UNNE 6: 17-20, 1999.
- 33. Hoffmann, D. F.; Leboute, E. M.; Souza, S. M.** *Performance of bullfrogs tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw 1802) at 20°C*. Rev. Soc. Bras. Zoot. 19: 321-325, 1990.
- 34. Bicego, K. C.; Branco, L. G.** *Seasonal changes in the cardiorespiratory responses to hypercarbia and temperature in the bullfrog, *Rana catesbeiana**. Comp. Biochem. Physiol. 124: 221-229, 1999.
- 35. Rocha, P. L.; Branco, L. G.** *Seasonal changes in the cardiovascular, respiratory and metabolic responses to temperature in the bullfrog *Rana catesbeiana**. J. Exp. Biol. 201: 761-768, 1998.
- 36. Wright, M. L.; Proctor, K. L.; Alves, C. D.** *Hormonal profiles correlated with season, cold, and starvation in *Rana catesbeiana* tadpoles*. Comp. Biochem. Physiol. 124: 109-116, 1999.
- 37. Francini, F.; Gagliardino, J. J.** *Carbohidratos y secreción de insulina in vitro en el páncreas de *Bufo arenarum**. Anales del III Congreso Argentino de Herpetología, Corrientes, p. 37, 1997.