

## COMMUNICATIONS

---

### **Lipides et lipoprotéines (Électrophorèse en agarose) selon l'âge chez le cheval de selle cliniquement normal**

par Roland PERRIN\*, Thérèse FOULON\*\*,  
Paule GROSLAMBERT\*\*, Paul GROULADE\*\*\*.

---

#### RÉSUMÉ

Les variations avec l'âge du taux des lipides et l'analyse électrophorétique sur agarose des lipoprotéines sont étudiées sur un lot de 40 chevaux de selle cliniquement normaux. En même temps sont contrôlées l'influence des repas et de la conservation du sérum à + 4°.

#### SUMMARY

LIPIDS AND LIPOPROTEINS (agarose electrophoresis)  
AND THEIR AGE VARIATIONS AMONG CLINICALLY NORMAL SADDLE HORSES.

Age variations of lipids and agarose electrophoretic analysis of lipoproteins are studied among 40 clinically normal saddle horses. Together post prandial changes and serum conservation at + 4 °c. are studied.

Un dosage des lipides et une électrophorèse des lipoprotéines ont été réalisés sur le sérum de 40 chevaux du groupe II de notre étude d'électrophorèse des protéines publiée antérieurement [1]. Nous en présentons les résultats.

#### I - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre étude porte sur 40 chevaux de selle répartis en 4 lots suivant l'âge, prélevés après 4 à 6 heures de jeûne sur tube sec :

Lot A : 6 mois à 3 ans : 7

Lot B : 4 à 12 ans : 15

---

\* Clinique équine des Yvelines, 18 rue des Champs - La Brosse - 78470 - Saint Lambert des Bois.

\*\* Biochimie médicale A, CHU, BP 217 X - Grenoble, cedex 9.

\*\*\* 11 rue Ernest Cresson - 75014 Paris.

Lot C : 13 à 19 ans : 9

Lot D : 20 à 32 ans : 9

Un cheval a été suivi de 32 à 35 ans.

En outre, *l'influence des repas* a été suivie sur le sérum de 3 chevaux d'un centre hippique où les repas sont distribués à heures régulières (11 et 18 heures) et sont composés d'un aliment complet sous forme de granulés. Les prélèvements ont été effectués 1 heure, 4 heures, 16 heures après le repas.

Le **cholestérol**, les **triglycérides** et les **phospholipides** sériques sont dosés par des méthodes enzymatiques (PAP - TRINDER - réactifs Biotrol) sur analyseur centrifuge Cobas-Fara. Le dosage des triglycérides porte sur le glycérol total et celui des phospholipides sur la choline [2].

L'**électrophorèse des lipoprotéines** est réalisée en gel d'agarose à 1% d'albumine selon NOBLE [3]. 5 µl de sérum sont déposés, la migration est réalisée dans un appareil d'électrophorèse à évaporation limitée [4]. La durée de migration est de 1 h 40 à 270 volts et 20 mA pour une plaque. Les lipides sont colorés au Noir Cérol B.

La densitométrie est faite sur cellosystem II Sébia avec détermination du pourcentage de chaque fraction, de la surface totale et de la valeur de densité optique du pic le plus élevé. Un sérum témoin humain, conservé congelé à -20° C en présence de saccharose, est déposé sur chaque plaque, il sert de référence pour la coloration et le repérage des fractions.

L'*emplacement des fractions lipoprotéiques* en agarose a été établi par migration comparée avec les protéines du cheval et les lipoprotéines humaines (Fig. 1-2).

La *conservation des lipoprotéines* du sérum à + 4° C a été étudiée sur 3 sérums pendant 4 semaines.

L'**étude statistique** a porté sur la comparaison des moyennes des différents paramètres selon l'âge par l'analyse de variance.

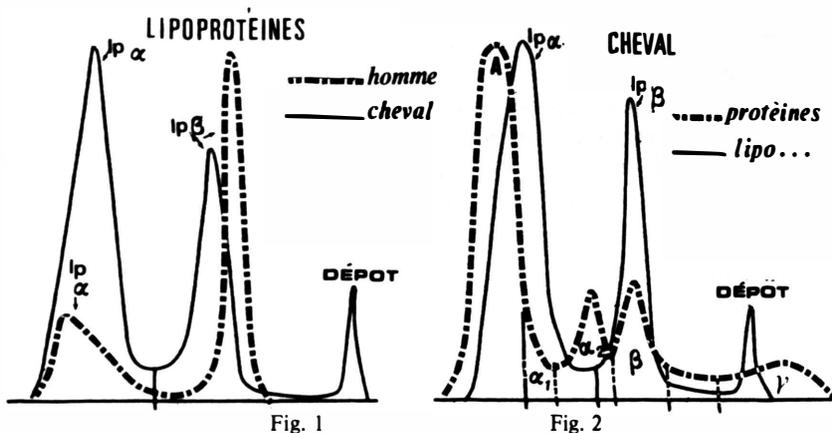
## II - RÉSULTATS

### A - LIPIDES

- Évolution selon l'âge :

Tableau I (Fig. 3)

ÂGE	n	cholestérol g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
6 mois à 3 ans	7	0,90 ± 0,08	0,37 ± 0,12	1,40 ± 0,2
4 à 12 ans	15	0,88 ± 0,17	0,22 ± 0,18	1,30 ± 0,19
13 à 19 ans	9	0,84 ± 0,2	0,32 ± 0,17	1,20 ± 0,15
20 à 32 ans	9	0,83 ± 0,19	0,36 ± 0,12	1,30 ± 0,26



1 - Migration comparée en agarose : lipoprotéines homme (trait en pointillé) cheval (trait plein)

Mobilité plus grande de la fraction bêta du cheval. A noter que le sérum humain, de même que le sérum de cheval ne présentent pas de fraction pré-bêta individualisable.

2 - Migration comparée en agarose : protéines (trait en pointillé) et lipoprotéines (trait plein)

La fraction alpha (HDL) migre dans l'intervalle alpha 1-albumine, la fraction pré-bêta (VLDL) au niveau alpha 2 et bêta (LDL) au niveau des globulines bêta.

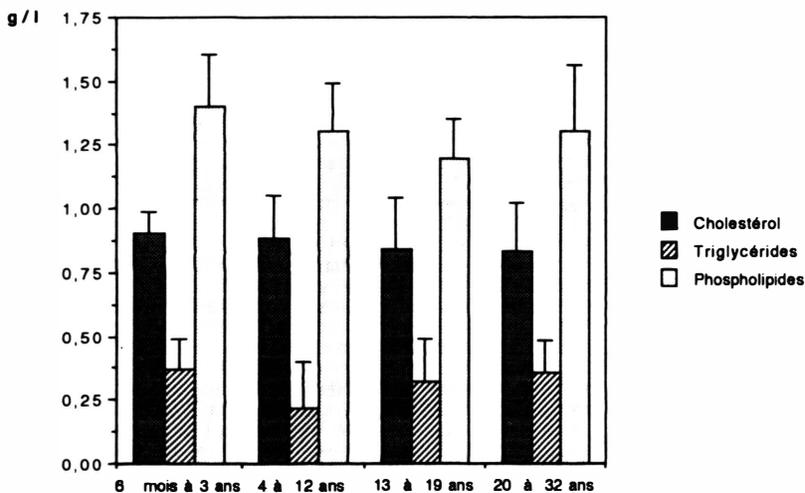


Fig. 3 : Paramètres du bilan lipidique selon l'âge.

3 - Histogramme des valeurs des lipides selon l'âge

Le taux de cholestérol diminue discrètement avec l'âge, tandis que celui des triglycérides est minimum de 4 à 12 ans et celui des phospholipides de 13 à 19 ans, sans différence significative.

Aucune différence significative n'est retrouvée entre les différentes classes d'âge.

Le taux de cholestérol diminue discrètement avec l'âge, tandis que celui des triglycérides est minimum de 4 à 12 ans et celui des phospholipides de 13 à 19 ans.

Tableau II

- cheval âgé suivi :

ÂGE	cholestérol g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
32 ans	0,88	0,10	1,3
33 ans	0,72	0,37	1
34 ans	0,75	0,60	1,11
35 ans	0,73	0,53	1,13

Le cholestérol et les phospholipides diminuent légèrement, tandis que les triglycérides augmentent.

## B - LIPOPROTÉINES

a) Identification des fractions (Fig. 4) :

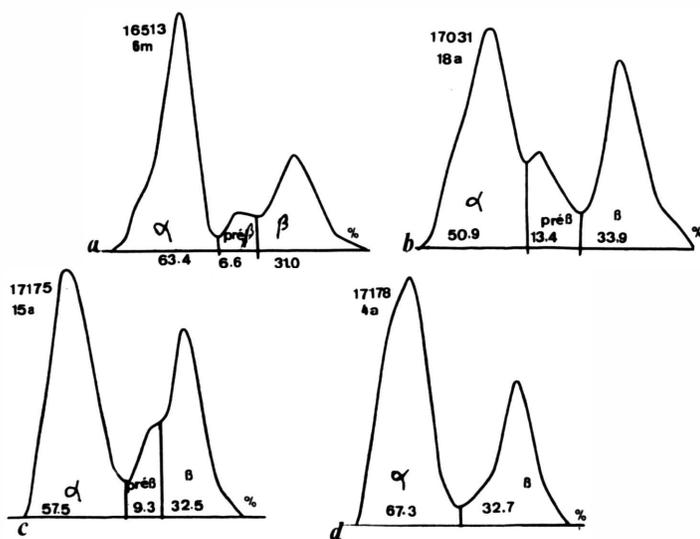


Fig. 4

4 - Identification des fractions et leur emplacement :

- 3 fractions : la fraction pré-bêta est indépendante des deux autres : 58,1 % des cas.
- 3 fractions : fraction pré-bêta en épaulement des alpha : 16,2 % des cas.
- 3 fractions : fraction pré-bêta en épaulement des bêta : 20,9 % des cas.
- 2 fractions : la fraction pré-bêta est absente : 4,8 % des cas.

Trois fractions ont été identifiées : *alpha*, *pré-bêta*, *bêta*.

- La fraction *alpha* est la plus importante et la plus rapide, elle migre dans l'intervalle alpha 1-albumine (Fig. 2).

- La fraction *pré-bêta* la plus faible est de morphologie variable. Son emplacement se situe soit : (Fig. 4a b c d)

- . indépendant des autres fractions : 58,1% (a)
- . en épaulement des alpha lipoprotéines : 16,2% (b)
- . en épaulement des bêta lipoprotéines : 20,9% (c)
- . absent : 4,8% (d)

- La fraction *bêta* représente environ le tiers de l'ensemble des lipoprotéines, elle migre au même niveau que les globulines bêta.

*Par rapport aux lipoprotéines humaines*, la principale différence est l'emplacement plus anodique de la fraction *bêta*, comme pour les globulines (Fig. 1).

#### b) Évolution selon l'âge :

Tableau III (Fig. 5)

ÂGE	n	alpha Lp (HDL)	pré-bêta Lp (VLDL)	bêta Lp (LDL)
6 mois à 3 ans	7	59 ± 6,7	8,4 ± 2,2	32 ± 4,6
4 à 12 ans	15	62 ± 8,2	5,6 ± 4,4	32 ± 7,4
13 à 19 ans	9	60 ± 5,2	7,8 ± 3,1	33 ± 4,9
20 à 32 ans	9	57 ± 6,9	8,1 ± 6,8	36 ± 12

Electrophorèse en agarose (expression en pourcentages)

Aucune différence significative n'est mise en évidence.

Nous notons une valeur minimum pour la fraction *pré-bêta* dans l'intervalle 4-12 ans et des écarts plus importants pour les *pré-bêta* et les *bêta* lipoprotéines chez les sujets âgés.

- cheval âgé suivi :

Tableau IV

ÂGE	alpha Lp (HDL)	pré-bêta Lp (VLDL)	bêta Lp (LDL)
32 ans	77,5	5	17,5
33 ans	48,2	/	51,8
34 ans	55,7	7,5	36,8
35 ans	58,7	/	43,2

Électrophorèse en agarose (expression en pourcentages)

A partir de 33 ans, la fraction *alpha* diminue, parallèlement la fraction *bêta* augmente.

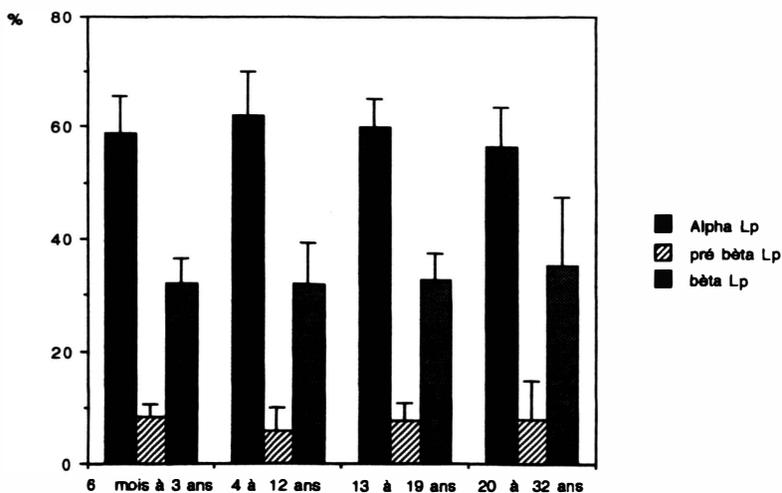


Fig. 5: Lipidogramme selon l'âge.

5 - Histogramme des lipoprotéines en électrophorèse sur agarose selon l'âge. Aucune différence significative n'est mise en évidence. On note une valeur minimum de la fraction pré-bêta de 4 à 12 ans.

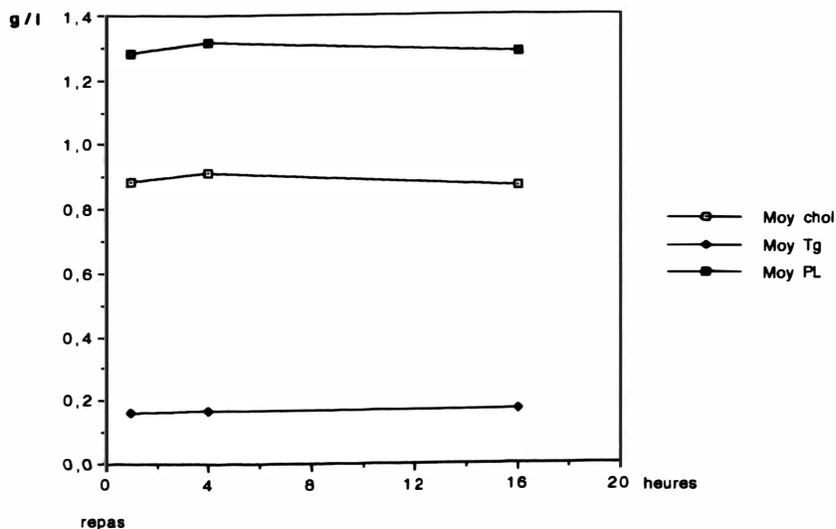


Fig. 6: Influence de l'alimentation sur les lipides.

6 - Influence des repas: évolution des lipides, moyennes de trois sujets suivis: 1 heure, 4 heures, 16 heures après le repas. Peu de variations.

## C - INFLUENCE DES REPAS

Les lipides ne varient pas nettement. Deux fois sur trois le cholestérol et les triglycérides ont tendance à augmenter 4 heures après le repas. La morphologie du lipidogramme n'est pas modifiée (Fig. 6 et 7).

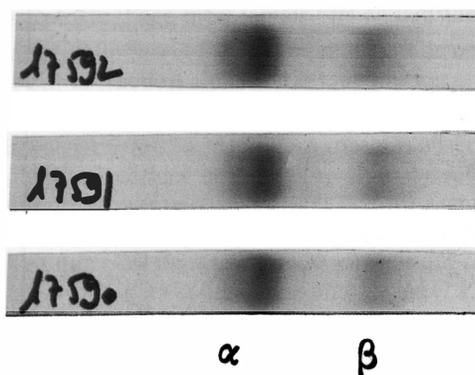


Fig. 7

7 - Lipoprotéines sur agarose ; bandes colorées au Noir Cérol B :  
de haut en bas : 1 heure, 4 heures, 16 heures après le repas : même aspect.

## D - CONSERVATION DU SÉRUM À + 4 °C (Fig. 8)

La variation la plus nette est l'élévation régulière du cholestérol jusqu'à la troisième semaine. Les triglycérides varient de façon irrégulière, la valeur la plus basse se situe à la troisième semaine. Les phospholipides sont assez stables.

## III - DISCUSSION

En ce qui concerne les *lipides*, nos résultats sont en accord pour le cholestérol et très proches pour les triglycérides avec ceux de la littérature (tableau V).

Tableau V

Auteurs	cholestérol	triglycérides	phospholipides
R. STRAUB et coll. 1977 (5)	0,95 ± 0,14	0,2 ± 0,07	1,47 ± 0,17
A.G. RICO et coll. 1978 (6)	0,85 ± 0,14	0,18 ± 0,11	ND
J.M. NAYLOR et coll. - 1980 (7)	0,86 ± 0,13	0,32 ± 0,13	ND
T.D.G. WATSON et coll. - 1991 (8)	0,80 ± 0,11	0,24 ± 0,08	ND

## CONSERVATION DES ECHANTILLONS A + 4°C

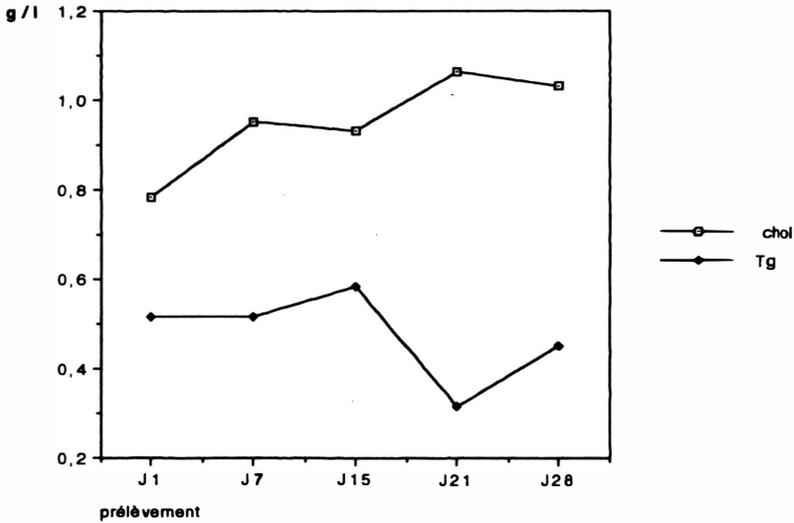


Fig. 8

8 - Conservation du sérum à + 4°: évolution du cholestérol et des triglycérides, moyenne des valeurs de 3 sérums suivis 4 semaines. Le cholestérol augmente jusqu'à la troisième semaine.

Pour les *lipoprotéines*, tous les auteurs (tableau VI) reconnaissent 3 fractions, dont les valeurs sont proches des nôtres, si l'on compte alpha L + alpha 1 pour le papier. WATSON et coll. [11], en chromatographie sur colonne d'agarose à 6% révèlent 3 pics, qui correspondent aux VLDL, LDL, HDL et que l'on peut assimiler respectivement aux pré-bêta, bêta et alpha lipoprotéines. Les HDL représentent la classe majoritaire (61%).

Tableau VI

Auteurs	supports	alpha (HDL)	prébêta (VLDL)	bêta (LDL)
J. HORT 1968 (9)	papier	18,4 ± 6,3 38,2 ± 9,2 (AL + alpha)	4,12 ± 0,95 (bêta)	34,46 ± 5,4 (gamma)
R. STRAUB et coll. 1977 (5)	agarose	60,96 ± 4,63	4,12 ± 0,95	30,46 ± 5,4
T.D.G. WATSON et coll. 1991 (8)	gel filtration agarose	61	24	15

En gel de polyacrylamide, S.M. ROBIE et coll. (1975) [10] situent la mobilité des VLDL et LDL dans la zone bêta, et celle des HDL en alpha, cette dernière étant la fraction majoritaire. Enfin I. PAPADOPULO et coll. 1987 [11] révèlent 3 fractions sans indiquer de valeurs.

Dans les travaux que nous avons consultés et auxquels nous faisons référence dans le texte, l'âge n'est jamais pris en considération.

Le faible taux de lipides et le mode de transport du cholestérol assuré principalement par la fraction alpha (HDL) [8], protègent efficacement le cheval contre les accidents de l'hypercholestérolémie.

Chez le cheval suivi de 32 à 35 ans, les variations observées portent sur le cholestérol, les triglycérides et l'équilibre alpha-bêta. Elles pourraient résulter d'un apport alimentaire insuffisant [12] dû à une altération des fonctions digestives liées à l'âge chez certains sujets. Cette hypothèse est inspirée par le fait que c'est dans le lot de 20 à 32 ans que la dispersion des valeurs des fractions pré-bêta et bêta est la plus élevée (7 à 12 au lieu de 2 à 7 pour les autres lots).

#### IV - CONCLUSION

Le sérum du cheval est pauvre en lipides et lipoprotéines. La fraction alpha, qui représente les HDL, prédomine. Nous n'avons pas trouvé de variations significatives avec l'âge. Les repas entraînent peu de variations chez les 3 sujets étudiés. La conservation des sérums à + 4° C s'accompagne d'une augmentation du cholestérol maximum à la troisième semaine et une baisse des triglycérides maximum au même moment.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] PERRIN (R.), FOULON (T.), GROSLAMBERT (P.), GROULADE (P.). - Électrophorèse des protéines sériques selon l'âge chez le cheval de selle cliniquement normal. *Bull. Acad. Vet. de France*, 1992, 65, 453-463.
- [2] Commission Lipides Lipoprotéines de la SFBC :
  - Méthode sélectionnée pour le dosage enzymatique du cholestérol total. *I.S.B.*, 1979, 4, 23-31.
  - Méthode sélectionnée pour le dosage des triglycérides sériques. *I.S.B.*, 1982, 6, 445-451.
  - Méthode sélectionnée de détermination enzymatique des phospholipides choliniques. *I.S.B.*, 1985, 11, 262-263.
- [3] NOBLE (R.P.). - Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel. - *J. Lipid Res.*, 1968, 9, 693-700.
- [4] GROULADE (J.) in MILANO (J.M.). - Électrophorèse sur acétate de cellulose des protéines sériques de l'homme normal. *Thèse de Médecine*, Grenoble, 1974, n° 18, 68 pages.
- [5] STRAUB (R.), PETITJEAN (J.), TSCHUDI (P.). - Serum lipide und lipoprotein bei gesunden equiden. *Schweis. Arch. Tierheilk.*, 1977, 119, 93-101.
- [6] RICO (A.G.), BRAUN (J.P.), BERNARD (P.), BARDIES (J.), THOUVENOT (J.P.), PARIQUET (B.), PENTA VID (M.). - Biochimie sérique du poney. *Ann. Rech. Vet.*, 1978, 9, 393-399.

- [7] NAYLOR (J.M.), KRONFELD (D.S.), AGLAND (Helen). - Hyperlipemia in horses : effects of undernutrition and disease. *Am. J. Vet. Res.*, 1980, 41, 899-905.
- [8] WATSON (T.D.G.), BURNS (Lynn), LOVE (S.), PACKARD (C.J.), SHEPERD (J.). - The isolation, characterisation and quantification of equine plasma lipoproteins. *Equine Veterinary Journal*, 1991, 23, 352-359.
- [9] HORT (J.). - Paper electrophoretic fractionation and chemical determination of horse serum proteins and lipoproteins. *Am. J. Vet. Res.*, 1968, 29, 813-815.
- [10] ROBIE (S.M.), JANSON (C.H.), SMITH (S.C.), O'CONNOR (J.T.). - Equine serum lipids : lipid composition and electrophoretic mobility of equine serum lipoprotein fractions. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, 35, 713-721.
- [11] PAPADOPULO (I.), DE LA FARGE (F.), BRAUN (J.P.), VALDIGUIE (P.), RICO (A.G.). - Analyses for lipoproteins in horses serum. *Clin. Chem.*, 1987, 33, 1081.
- [12] BARTLEY (J.C.), Lipid metabolism in KANEKO (J.J.), CORNELIUS (C.F.). - Clinical biochemistry of domestic animals. *Academic Press*, Edit. 1971, 2<sup>e</sup> Edit., Vol I, 53-96.