



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



REPOSICION DE
FAC. DE QUIMICA

HDL-COLESTEROL EN PACIENTES CON
INFARTO AL MIOCARDIO.

TRABAJO MONOGRAFICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

JOAQUIN GONZALEZ MONROY

MEXICO, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAG.
CAPITULO I	
INTRODUCCION-----	1
OBJETIVOS-----	3
CAPITULO II	
GENERALIDADES	
Antecedentes históricos-----	4
Estadísticas de la mortalidad en México-----	6
Principales características fisicoquímicas de las lipoproteínas plasmáticas humanas-----	9
Síntesis de las lipoproteínas-----	10
Biosíntesis endógena del colesterol-----	16
Influencia de la dieta en los niveles lipídicos-----	22
Contenido de colesterol y grasa total de los principa- les alimentos-----	25
Composición de los lípidos y niveles plasmáticos-----	27
Factores hereditarios-----	28
La importancia de la fracción HDL-colesterol en el diagnóstico del infarto al miocardio-----	30
Definición de términos:-----	31
a) Enfermedad coronaria-----	31
b) Cardiopatía isquémica-----	31

Síndromes clínicos de insuficiencia coronaria-----	32
--	----

CAPITULO III

PROTECCION DEL MIOCARDIO ISQUEMICO

Antecedentes médicos-----	31
Disminución del consumo de oxígeno por el mio- cardio-----	35
Aumento del aporte de oxígeno al miocardio-----	39
Protección de la integridad funcional y estructural de la célula miocárdica-----	41

CAPITULO IV

METODOLOGIA EN EL LABORATORIO DE LA FRACCION HDL-COLESTEROL

Metodología analítica y propiedades fisicoquímicas de las lipoproteínas-----	45
Método de separación de lipoproteínas en gel de agarosa-----	49
Método de separación de lipoproteínas en gel de poliacrilamida-----	55
Método de separación de lipoproteínas por precipi- tación con polianiones-----	60
Determinación del colesterol de las HDL (alfa lipo- proteínas) por método químico-----	65
Determinación del colesterol de las HDL (alfa lipo- proteínas) por método enzimático-----	70

CAPITULO V

RESUMEN----- 74

CAPITULO VI

CONCLUSIONES----- 75

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA----- 78

INTRODUCCION

El infarto del miocardio fué hasta hace pocos años -- una entidad clínica dentro de la cardiología de la que poco se sabía en sus mecanismos íntimos y en la que poco se pudiera -- ofrecer en terapéutica.

Siguen existiendo puntos de ignorancia y desconoci- - miento de muchos fenómenos: los mecanismos fisiopatológicos pre- - cisos de la cardiopatía isquémica, controversias sobre métodos- - terapéuticos, imposibilidad para modificar la mortalidad por - algunas complicaciones.

Es por este motivo que se hará la investigación de la mortalidad por IAM (infarto agudo del miocardio) que padece Mé- xico a nivel nacional.

Por otro lado, no es ya la época del infarto del mio- cardio tratado con reposo prolongado, esclavizante e invalidan- te para el paciente y del uso empírico de anticoagulantes, si- no es tiempo de mejor conocimiento, experiencias acumuladas a- los que el tiempo habrá de agregar nuevas aportaciones y madu- rez.

La investigación en este campo continúa en todas sus-

formas:

Como cuantificar en el área del laboratorio la actividad de la isoenzima CK-MB (creatin cinasa MB) en la sangre durante las primeras horas del infarto, así como las enzimas del perfil cardíaco. Además existe enorme interés en la posibilidad de limitar la magnitud del infarto al reducir la zona de necrosis, al administrar soluciones bioquímicamente activas como potasio-glucosa-insulina, o al inyectar agentes activos como esteroides o hialuronidasa.

También se puede prevenir un infarto agudo del miocardio cuantificando el colesterol de alta densidad de las lipoproteínas.

El tema de HDL-colesterol significa colesterol de alta densidad de las lipoproteínas y se acostumbra usarlo literalmente del idioma inglés en las traducciones científicas sobre este tema, por lo que en la tesis se mencionará con frecuencia esta abreviación.

Por ello ha nacido la necesidad de establecer la relación que existe entre el colesterol de alta densidad de las lipoproteínas con el infarto agudo del miocardio.

OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son:

a) Establecer la importancia de las enfermedades del corazón estadísticamente a nivel nacional y su relación con -- otras enfermedades que son causa de mortalidad en México.

b) Presentar la biosíntesis de las lipoproteínas así como antecedentes de la existencia de factores hereditarios en el infarto agudo del miocardio.

c) Establecer la prevención, diagnóstico y tratamiento de pacientes con infarto agudo del miocardio, por medio del laboratorio y del equipo médico con que cuenta una unidad coronaria en un hospital.

d) Aportar una tesis que sirva de colaboración en -- una unidad coronaria de un hospital, al personal de salud que labora en ella.

CAPITULO II GENERALIDADES

Antecedentes Históricos.

El primer aislamiento de lipoproteínas en forma relativamente pura fué hecha por Macheboeuf en 1929 (37) al lo- -
grar la precipitación de una fracción del suero de sangre de-
caballo mediante el uso de sales de sulfato de sodio.

Gofman y col. (37) comenzaron en la década de los 50, los estudios tendientes a la separación de las fracciones li-
poproteicas del suero humano, con el auxilio de la ultracen--
trifugación analítica.

El uso de la electroforesis empleando como soporte -
el papel significó un notorio progreso, por cuanto permitió -
el estudio en forma mucho más simple y accesible. Pero aún -
con la provechosa modificación de Lee y Hatch (37), quienes -
incorporaron la albúmina al amortiguador de corrida, lo cual -
permitió sentar las bases de la clasificación de Fredickson -
(37), no se logró una clara identificación de las bandas.

Esto solo es posible en nuestros días con la electroforesis practicada en gel de agar y sobre todo en agarosa.

También debe destacarse que los primeros en aislar - la fracción HDL (lipoproteína de alta densidad) fueron Windmüller y col. (60) que la obtuvieron de intestino de rata.

Posteriormente en 1969 Stein y col. (56) colaborando con otros trabajos precedentes introdujeron la técnica química para la determinación de HDL-colesterol y también para -- cuantificar los esteres de colesterol.

Pero actualmente Burstein (10) introdujo la técnica-enzimática para la cuantificación de HDL-colesterol realizando la combinación de agentes precipitantes de las lipoproteínas LDL y VLDL, por lo que en el sobrenadante cuantifica enzimáticamente el HDL-colesterol.

Estadísticas de la mortalidad en México.

A nivel nacional es interesante destacar que las enfermedades cardiovasculares ocupan el tercer lugar de mortalidad en México, en relación con las demás enfermedades como se puede observar en la tabla no. 1. También para este estudio se señala la mortalidad por estados en la tabla no. 2, donde es importante mencionar que entidades como el D.F., Jalisco, Veracruz y Nuevo León que se caracterizan por tener mayores situaciones de stress presentan el mayor número de decesos.

En general la mayoría de las entidades de México presentan un bajo índice de mortalidad por enfermedades del corazón.

TABLA Num. 1
MORTALIDAD A NIVEL NACIONAL (16)
SPP

GRUPO	Enfermedad y/o causa	%
Total		100.0
A.1	Tuberculosis, difteria, tosferina, poliome- litis, sarampión, viruela.	32.5
A.2	Fiebre tifoidea, otras salmonelosis, disen- tería bacilar y amibiana, rabia.	2.9
A.3	Influenza, Neumonía, Bronquitis.	4.9
A.4	Sífilis y sus secuelas, angina estreptococci- ca, lepra.	1.9
B.0	Causas de morbilidad y mortalidad perinata- les.	2.0
C.0	Tumores malignos y benignos.	5.2
*D.0	Isquemia del corazón e hipertensión con en- fermedades del corazón.	15.0
E.1	Bocio no tóxico, Diabetes Mellitus, Avitami- nosis.	30.9
E.2	Cirrosis hepática.	0.8
E.3	Complicaciones del embarazo, parto y puerpo- rio.	0.6
E.4	Anomalías congénitas.	1.0
E.5	Accidentes de vehículos, de motor.	1.2
E.6	Suicidio, homicidio y lesiones intenciona- les.	0.6
E.7	Meningitis, enfermedades del aparato respi- ratorio, úlcera del estómago y del duodeno, apendicitis, hernia.	0.6

* 3er. lugar en México.

TABLA Num. II
MORTALIDAD A NIVEL NACIONAL (16)
ENFERMEDADES DEL CORAZON. SPP. AÑO 1975-82

ESTADO	Num. de muertes	%	Estado	Num. de muertes	%
Total	64040	100.0		64040	100.0
Aguascalientes	428	0.6	Nayarit	562	0.9
B. California N.	1205	1.8	N. León	2306	3.6
B. California S.	136	0.2	Oaxaca	1654	2.5
Chiapas	1062	1.6	Puebla	2488	3.9
Chihuahua	1989	3.1	Querétaro	556	0.9
Coahuila	1674	2.6	Q. Roo	53	0.1
Colima	300	0.4	S.L.P.	1528	2.3
D.F.	12300	19.2	Sinaloa	1578	2.5
Durango	1104	1.7	Sonora	1796	2.8
Guanajuato	2984	4.6	Tabasco	754	1.2
Guerrero	1145	1.7	Tamaulipas	1967	3.0
Hidalgo	1586	2.4	Tlaxcala	712	1.1
Jalisco	6200	9.7	Veracruz	4593	7.1
México	6500	10.1	Yucatán	994	1.5
Michoacán	2733	4.2	Zacatecas	940	1.4
Morelos	854	1.3			

Principales características fisicoquímicas de las lipoproteínas plasmáticas humanas. (26)

Lipoproteínas	Densidad g/ml	Tamaño (Å)	% lípido- proteína.	Apoproteí- nas
QUILOMICRONES	0.95	1000-10000	98:2	B, C, A ¹
VLDL (LP. de muy baja densidad)	0.95-1.006	300-1000	90:10	B, C, E
IDL (LP. de densi- dad intermedia)	1.006-1.019	300-500	85:15	B, C, E
LDL (LP. de baja densidad)	1.019-1.04	150-300	75:25	B
HDL 1	1.04-1.06	75-150	50:50	A ¹ , A2, C
HDL 2	1.063-1.125	40-75	50:50	A ¹ , A2, C
HDL 3 (LP. de alta densidad)	1.125-1.21	20-40	50:50	A ¹ , A2, C

Síntesis de las lipoproteínas.

Tal vez la más original de las modernas hipótesis acerca de la síntesis de las lipoproteínas plasmáticas es la propuesta por Hamilton (23) que dice: "Son simplemente pequeñas piezas modificadas de la membrana celular".

Además propuso la existencia de dos tipos básicos de membrana modificada que darían lugar a dos grandes tipos de familias de lipoproteínas y que esto es determinado por la inserción de las apoproteínas A ó B en la masa lipídica de la membrana.

La inserción de la apoproteína B estimularía la síntesis de triglicéridos, dando lugar a VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), dentro de la célula hepática. Estas partículas son posteriormente segregadas al torrente sanguíneo para transportar la grasa fuera del hígado, hacia otros tejidos.

La inserción de la apoproteína A, en cambio provoca la formación de HDL (lipoproteínas de alta densidad), libre de lípidos no polares.

Esta HDL naciente es segregada en forma independiente por las células hepáticas y su función es como lo señaló -

Principales características fisicoquímicas de las lipoproteínas plasmáticas humanas. (26)

Lipoproteínas	Densidad g/ml	Tamaño (Å)	% lípido- proteína.	Apoproteí- nas
QUILOMICRONES	0.95	1000-10000	98:2	B,C,A ¹
VLDL (LP. de muy baja densidad)	0.95-1.006	300-1000	90:10	B,C,E
IDL (LP. de densi- dad intermedia)	1.006-1.019	300-500	85:15	B,C,E
LDL (LP. de baja densidad)	1.019-1.04	150-300	75:25	B
HDL 1	1.04-1.06	75-150	50:50	A ¹ ,A2,C
HDL 2	1.063-1.125	40-75	50:50	A ¹ , A2,C
HDL 3 (LP. de alta densidad)	1.125-1.21	20-40	50:50	A ¹ ,A2,C

Síntesis de las lipoproteínas.

Tal vez la más original de las modernas hipótesis acerca de la síntesis de las lipoproteínas plasmáticas es la propuesta por Hamilton (23) que dice: "Son simplemente pequeñas piezas modificadas de la membrana celular".

Además propuso la existencia de dos tipos básicos de membrana modificada que darían lugar a dos grandes tipos de familias de lipoproteínas y que esto es determinado por la inserción de las apoproteínas A ó B en la masa lipídica de la membrana.

La inserción de la apoproteína B estimularía la síntesis de triglicéridos, dando lugar a VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), dentro de la célula hepática. Estas partículas son posteriormente segregadas al torrente sanguíneo para transportar la grasa fuera del hígado, hacia otros tejidos.

La inserción de la apoproteína A, en cambio provoca la formación de HDL (lipoproteínas de alta densidad), libre de lípidos no polares.

Esta HDL naciente es segregada en forma independiente por las células hepáticas y su función es como lo señaló -

Glomset (20) la de llevar de retorno al hígado el colesterol - extrahepático.

De las lipoproteínas, los quilomicrones son las partículas relativamente de mayor tamaño. Estas partículas contienen triglicéridos exógenos aportados por la alimentación - (90%) y colesterol.

Los triglicéridos son separados en ácidos grasos, monoglicéricos y glicerol, los cuales son posteriormente absorbidos por las células intestinales gracias a su unión con las sales biliares. (23)

Las células intestinales resintetizan los triglicéridos, los que a su vez se combinan con las apoproteínas A¹, B, C para formar los quilomicrones. (20)

Otros triglicéridos se combinan con las apoproteínas B, C y E para formar las partículas de VLDL. Los quilomicrones y las partículas de VLDL pasan posteriormente por los vasos quilíferos y el conducto torácico y finalmente alcanzan - la circulación general. (23)

Las partículas de VLDL, las cuales son principalmente sintetizadas en el hígado, contienen más de un 50% de los triglicéridos endógenos formados en el hígado a partir de los

carbohidratos. (20)

Los ácidos grasos de los triacilgliceridos se liberan para constituir la reserva de energía de los tejidos periféricos.

Los triacilgliceridos de las partículas de VLDL son eliminados paulatinamente a medida que este proceso continúa, las partículas de VLDL se hacen cada vez más pequeñas. Al mismo tiempo estas partículas se hacen más ricas en colesterol y fosfolípidos produciendo como resultado final las partículas de LDL (lipoproteínas de baja densidad), las que contienen un contenido en colesterol hasta de un 45%, aportan el colesterol necesario para la formación de las membranas celulares. (23)

Las partículas de HDL, que son las partículas de menor tamaño, son también sintetizadas en el hígado. Estas tienen inicialmente la forma de discos aplanados con un contenido de fosfolípidos cercanos al 50%.

En los tejidos periféricos estas partículas incorporan el exceso de colesterol por acción de la LCAT (lecitín-colesterol-acil-transferasa) y en el proceso adoptan una forma cada vez más esférica.

Las partículas de HDL transportan el colesterol hasta el hígado, en donde es degradado y excretado en la bilis bajo la forma de ácidos biliares y esteroides neutros.

(20)

Los quilomicrones circulantes son convertidos en lipoproteínas con un menor contenido de triglicéridos, gracias a la acción de la lipoproteína lipasa presente en el endotelio-capilar de los tejidos adiposo y muscular. (23)

Esta enzima hidroliza los triglicéridos y libera los ácidos grasos y las apoproteínas.

Los ácidos grasos libres se conjugan con la albúmina y en esta forma son transportados desde el tejido adiposo para suplir la demanda calórica del organismo.

Los ácidos grasos no esterificados circulan en exceso y reaparecen en el plasma como glicéridos endógenos.

La apoproteína C liberada, sirve a su vez como activador de la lipoproteína lipasa y junto con la apoproteína A, es utilizada en el hígado para formar las partículas de HDL.

(20)

Finalmente los residuos de los quilomicrones son to-

mados por el hígado junto con colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos y apoproteína.

Como él señaló anteriormente, las VLDL son los precursores directos de las LDL. El producto intermedio entre estas lipoproteínas serían las partículas de IDL, las cuales son completamente transformados en partículas de LDL.

Las partículas de VLDL constituidas por triglicéridos, colesterol y apoproteínas B,C y E, liberan los triglicéridos gracias a la acción de la lipoproteínlipasa y de un C2-cofactor.

La apoproteína B se une al colesterol y a los fosfolípidos para formar las partículas de LDL, mientras que la apoproteína C es incorporada en las partículas de HDL. La apoproteína B de los residuos de los quilomicrones es reconocida por los receptores B de las células hepáticas, en tanto que la apoproteína B de las partículas de LDL es reconocida por los receptores B de las células periféricas.

Biosíntesis endógena del colesterol. Figura 3.

Estructura del colesterol. Figura 2.

Se realiza por una vía idéntica a la que ha sido demostrada en el hígado y en otros tejidos (50). Así tres moléculas de acetil-CoA son condensadas para formar B-hidroxi--B-metil-glutaril-CoA, compuesto que por la reductasa correspondiente es llevado a ácido mevalónico paso en el cual el --proceso se torna irreversible. Figura 3

La reacción prosigue a través de varios pasos, hasta llegar a la formación del escualeno, que al ciclarse origina--el lanosterol, un esteroide de 30 carbonos.

A partir de este compuesto y por acción de desmola--sas, se llega a la formación del colesterol (27 carbonos), pu--diendo hacerse esta etapa a través de varios mecanismos.

La síntesis de este esteroide a lo largo del tracto--intestinal es variable, pero su actividad es mayor en los seg--mentos distales (ileal) que en los proximales (duodeno-yeyuno proximal).

Comparando la actividad de las células de las crip--tas intestinales con las de las vellosidades se comprobó que--

en aquellos es significativamente mayor (52).

La regulación de este mecanismo de síntesis "de novo" por acción de las sales biliares (productos del catabolismo del colesterol) fué estudiado por Dietschy en 1968 (24), - quién comprobó la existencia de un mecanismo de retroalimentación por el cual se logra la inhibición de la síntesis del colesterol intestinal por acción de estos ácidos, que tendrá lugar después de la formación de acetoacetil-CoA y antes de la formación del mevalonato.

Por el contrario la síntesis no es afectada, por lo menos en forma significativa, por la ingesta del colesterol exógeno, a diferencia de lo que ocurre en el hígado.

La ubicación de la enzima limitante del proceso de síntesis (B-hidroxi-B-metil glutaril-CoA reductasa HMG-CoAr)- ha sido objeto de muchos estudios, habiendose establecido que en la célula intestinal la localización es microsomal y mitocondrial a diferencia de la célula hepática, donde es exclusivamente microsomal.

Ambas enzimas, intestinal y hepática, no difieren en forma significativa en sus características cinéticas y en el pH óptimo (2).

Sin embargo, en tanto que la actividad específica de la enzima intestinal no es afectada por la edad ni el sexo, - la hepática muestra menos actividad con el avance de los años, siendo menor en ratas hembras que en machos (22).

La síntesis del colesterol intestinal igual que la - del hepático pero en forma menos pronunciada está sujeta a -- un ritmo de tipo circadiano es decir donde tiene su mayor actividad, siendo la actividad de la HMG-CoAr, máxima durante - el período nocturno (54).

Esta variación es máxima en el íleo que en el yeyuno.

La regulación de este ritmo circadiano parece estar bajo dependencia hormonal.

Hickman (55) demostró que en las ratas adrenalectomizadas desaparece esta dependencia y que la síntesis del colesterol permanece constante en sus valores máximos o basales.

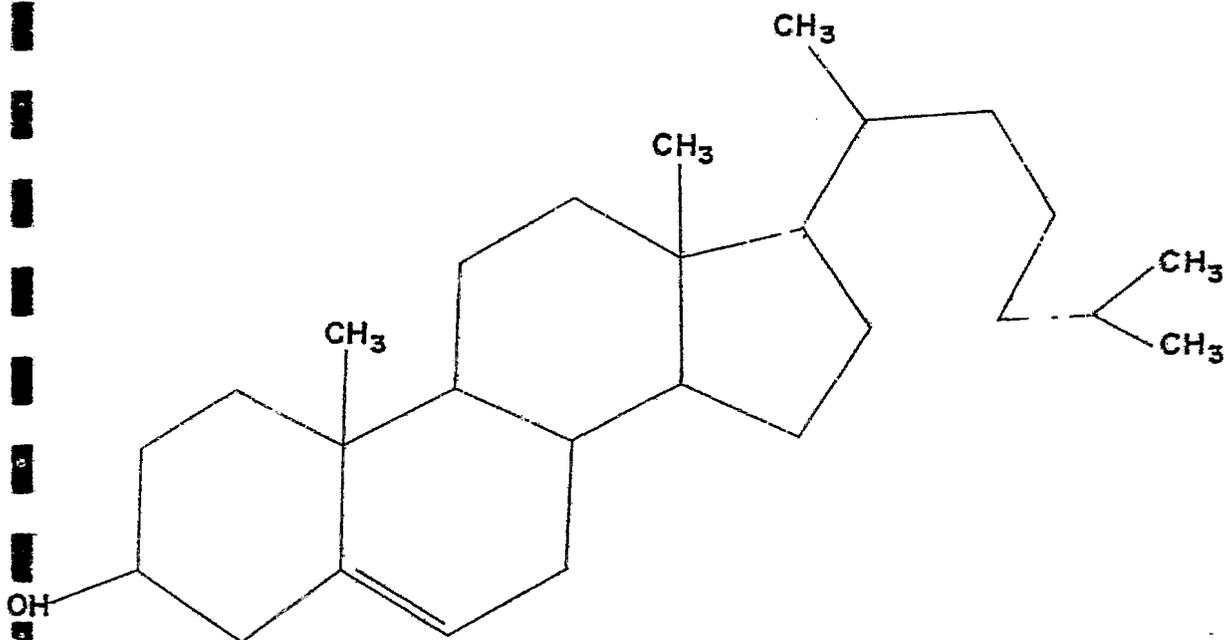
Dos grandes funciones cumple en definitiva el colesterol que sale del intestino con las lipoproteínas:

a) Contribuye al "pool" total del colesterol plasmático.

b) Ejerce un efecto inhibitorio sobre la síntesis - del colesterol hepático (60).

Se ha demostrado que la colestiramina (sustancia que se combina con los ácidos biliares, eliminándolos por las heces) aumenta la síntesis del colesterol intestinal.

Shafer (35) pudo demostrar aumentos en la actividad de la HMG-CoAr de hasta un 100% en ratas tratadas con colestiramina o con fistulas biliares, pudiendo llegarse a los valores normales con la infusión intraduodenal de taurocolato.



FORMULA DEL COLESTEROL $C_{27}H_{45}OH$

Figura 2. Fórmula estructural del colesterol.

1) Acetato $\xrightarrow{\text{activacion}}$ 2) Acetil Coa

3) Acetoacetil Coa

Hidroximetil glutaril Coa sintetasa

4) Hidroximetil glutaril Coa

Hidroximetil glutaril Coa reductasa

5) Mevalonato

6) Escualeno

7) Lanosterol

8) COLESTEROL

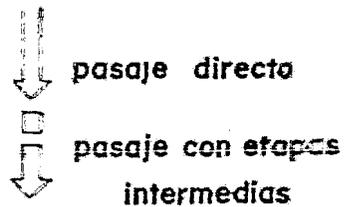


Figura 3. Biosíntesis endógena de colesterol.

Influencia de la dieta en los niveles lipídicos.

En la actualidad ya no existen dudas al considerar - que una dieta rica en grasas saturadas y en colesterol aumenta los niveles plasmáticos de este último, lo que implica un mayor riesgo en el desarrollo de la aterosclerosis.

También se sabe que la sobrealimentación asociada a la inactividad física conduce a la obesidad, promoviendo con ello el aumento de varios factores de riesgo. (25)

Hested (17) demostró que las dietas que contenían - 300 mg. de colesterol diarios producían en hombres normales - un aumento de colesterol en 40 mg. por encima de los valores- controles. Cuando al mismo tiempo se suministraba como grasa el aceite de coco rico en ácidos grasos saturados, los nive-- les de colesterol no se modificaban, en cambio si la grasa de la dieta era el aceite de oliva rico en ácido oleico (ácido - graso monoinsaturado) disminuían los niveles de colesterol.

Más aún si se suministraba aceite de oliva los nive- les de colesterol llegaban a disminuir en 35 mg. con respecto a los valores controles.

De acuerdo al estudio estadístico de Framingham (23) así como otros similares, han señalado el paralelismo existente

te entre el aumento de riesgo coronario y el de lipemia plasmática, aún dentro de los límites normales, por lo que se puede comprender la importancia que tienen los hábitos alimentarios para poder provocar la disminución de los riesgos de la enfermedad cardiovascular.

Pero también deberá tomarse en cuenta que la institución de un régimen alimentario no deberá chocar con los hábitos vitales normales del individuo ni deberá modificar su actividad psicológica normal.

La reducción de peso a través de una dieta hipocalórica adecuada logra la disminución de los niveles de lípidos plasmáticos así como los del ácido úrico (18) y la presión sistólica (19).

La reducción de peso trae como consecuencia la disminución del flujo de ácidos grasos no esterificados (que es -- mayor en los obesos) y con ello un menor aporte al hígado, -- por lo que disminuye la síntesis de triglicéridos y de VLDL - en ese órgano, resultando así la disminución plasmática.

Además cuando el obeso pierde peso, desaparece la resistencia periférica a la insulina por las células hipertrofiadas del tejido adiposo y por lo tanto se acelera la velocidad de desaparición de los triglicéridos del plasma.

El alcohol es un inductor de la síntesis de los triglicéridos endógenos, cuando es consumido en grandes cantidades.

Su admisión en una dieta racional puede ser tolerada dentro de ciertos límites, teniendo en cuenta su aporte calórico.

Contenido de colesterol y grasa total de los principales alimentos.

Es importante su conocimiento para llevar a cabo una dieta adecuada que no permita que se incrementen los valores del colesterol sérico.

Una dieta efectiva para lograr la reducción del colesterol sérico sería aquella que aporta un 38% de calorías en grasa y 200 mg de colesterol. De ese porcentaje calórico 5 a 12% corresponde a los ácidos grasos saturados y 14 a 22% a los poliinsaturados.

Por lo que para seleccionar una adecuada dieta es importante analizar la tabla no. 3 que se presenta a continuación.

TABLA Num. III
COMPOSICION DE ALIMENTOS (17)

Tipo de alimento =	Colesterol mg./100g.	Grasa g./100g.
Huevo (yema)	1200	34
Huevo (clara)	0	0
Carne vacuna	6.9	10-15
Cerebro (vacuno)	2000	8.5
Hígado (vacuno)	300	20
Riñón (vacuno)	350	10
Páncreas (vacuno)	280	1
Cerdo	65	10-15
Cordero	72	10-15
Aves (sin piel), gallina, pato, etc.	70	5
Pescados	60	3
Manteca (animal)	240	80
Margarina	0	80
Leche entera	13	3.5
Quesos (20-30% de grasas)	150	27
Jamón	42	31
Aceites insaturados	0	100
Manteca de cacao	0	100

= Los valores son promedio y aproximados.

Composición de los lípidos y niveles plasmáticos en adultos - (26).

Se puede observar en la tabla no. 4 que los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad y de baja densidad en hombres es mayor que en las mujeres.

Sin embargo la fracción de lipoproteínas de alta densidad es mayor en mujeres que en hombres.

Esta tabla también es importante porque nos permita observar la composición de cada una de las lipoproteínas y -- comparar los porcentajes de triglicéridos, fosfolípidos, co-- lesterol y esterés de colesterol de cada una de las fraccio-- nes de las lipoproteínas.

TABLA Num. IV

COMPOSICION DE LOS LIPIDOS Y NIVELES PLASMATICOS EN ADULTOS (26)

	QUILOMICRONES mg/dl	VLDL mg/dl	LDL mg/dl	HDL mg/dl	LDL/HDL
Hombres	-----	112	362	254	1.43
Mujeres	-----	53	313	306	1.02
% del total de Triglicéridos	90	56	16	6	
Fosfolípidos	7	20	24	42	
Colesterol	1	8	12	7	
Esteres de colesterol	2	9	48	21	

Factores hereditarios.

No ha sido demostrado relación en cuanto a la herencia de padres a hijos a producirse un infarto agudo del miocardio.

Por lo que genéticamente no se ha identificado un gen que codifique esta información y se manifieste en el fenotipo.

Sin embargo existen autores que han reportado relaciones como:

Franz, Rabkin y Pometta (19,53,49), los cuales llegan a la conclusión que hijos de padres que tuvieron infarto agudo del miocardio y la fracción de HDL-colesterol baja, en su mayoría presentaban la característica de una baja de HDL-colesterol cuando se compararon con un control sano. Así mismo observaron que la presencia de HDL-colesterol bajo en jóvenes ocasionalmente precedió a la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares.

La baja de HDL-colesterol estuvo asociada con incremento de VLDL-colesterol en etapas prepubertal y pubertal en muchachos con incremento significativo en VLDL-Tg.

El tabaquismo, alcoholismo y actividades físicas, -- factores del medio ambiente conocido que pueden afectar la -- fracción de HDL, no afectaron a estos muchachos ni a los controles.

Importancia de la fracción HDL-colesterol en el diagnóstico -
del infarto al miocardio.

La importancia de esta fracción HDL-colesterol radica en que es un parámetro significativo en relación con la -- alteración de las demás fracciones de las lipoproteínas. Ya que su determinación nos da un precedente posible de una alte ración coronaria.

Craig, Kaukola, Heldenberg, Hazzard, Goldbourt y Medalie (14, 29, 26, 25, 21), llegan a las siguientes conclusio nes: a) En hombres sobrevivientes de infarto agudo del miocar dio, el HDL-colesterol parece ser un factor de riesgo corona- rio. Este estudio indica que la baja de HDL-colesterol y - - esencialmente una baja en el cociente de HDL-colesterol/coles terol total, puede ser un grave factor de riesgo coronario.

b) Los programas moderados de ejercicios incremen - tan el HDL-colesterol en los sobrevivientes de infarto agudo- del miocardio y pueden contribuir a disminuir los riesgos de- subsecuentes infartos. Por lo que sugieren que un aumento -- del HDL-colesterol puede resultar una protección en la patogé nesis de la enfermedad coronaria.

Definición de términos:

- a) Enfermedad coronaria.
- b) Cardiopatía isquémica.

a) Enfermedad coronaria.

Se define como enfermedad coronaria a todo proceso - patológico que involucre a las arterias coronarias.

La causa es por lo general la aterosclerosis. La enfermedad coronaria implica que las arterias coronarias tienen un daño tal que se manifiesta en alguna forma clínica pues de hecho la mayoría de los hombres de más de 40 años padece cierto grado de aterosclerosis coronaria sin estar necesariamente enfermos.

b) Cardiopatía isquémica.

Cuando por algún motivo la enfermedad coronaria disminuye el aporte sanguíneo al miocardio, al grado de producir trastornos en su metabolismo celular, entonces existe cardiopatía isquémica. Es decir para que exista isquemia o infarto debe haber oclusión importante de una arteria que modifique - por déficit de riego sanguíneo el metabolismo de una zona da-da del miocardio.

Síndromes clínicos de insuficiencia coronaria.

La insuficiencia coronaria y la cardiopatía isquémica pueden ser clasificados en cuatro grandes grupos:

- a) La insuficiencia coronaria asintomática.
- b) Angor pectoris.
- c) Infarto del miocardio.
- d) La muerte súbita.

Un sujeto puede presentar alguna o varias de estas fases ó sólo una o varias a la vez.

De acuerdo al objetivo de la tesis se explicará solo la fase del infarto del miocardio, la cual corresponde a la destrucción celular, a la necrosis o muerte de una zona que por déficit de riego coronario y un consumo de oxígeno importante ha pasado por una etapa de isquemia que se agrava. La transición de isquemia a infarto puede ser lenta o brusca, puede establecerse un infarto si hay una oclusión aguda (por un trombo) en una arteria coronaria, sin isquemia previa aunque por lo general ocurre primero isquemia (59, 27).

Por lo que para comprobar que se trata de un infarto del miocardio se requiere del apoyo del laboratorio (54):

TABLA Num. V
DETERMINACIONES DEL LABORATORIO UTILES EN
EL INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO. (54).

Enzimas y determinaciones de rutina.	Cifras de referencia.	Inicia elevación después del infarto.	Pico máximo	Valor en el infarto.
TGO (Transaminasa glutámica -- oxalacética)	0-40 UI/l	12-24 hr	24-48 hr	100-250 UI/l
DHL 1 (Deshidrogenasa láctica uno)	0-600 UI/l	2o. a 3o. día	4o. a 5o. día	750-4000 UI/l
CK-MB (Isoenzima creatín-cinasa)	0-15 UI/l	4-12 hr	12-24 hr	30-150 UI/L
Leucocitos	5000 a 10000/mm ³	0-24 hr	0-24 hr	11000 a 18000/mm ³
VSG (Velocidad de sedimentación globular).	0-15 mm/hr	0-36 hr	-----	Se eleva a más de 20 mm/hr

CAPITULO III

PROTECCION DEL MIOCARDIO ISQUEMICO

Antecedentes Médicos.

Después de más de 10 años de la creación de las unidades de cuidados intensivos coronarios, la mortalidad hospitalaria por infarto agudo del miocardio se ha reducido casi a la mitad.

Este hecho es consecuencia de maniobras sistemáticas de carácter preventivo, hasta ahora fundamentalmente orientadas a trastornos del ritmo cardíaco.

La mayoría de las causas siguen siendo consecuencia de "falla de bomba" ó edema pulmonar. Con el avance de las técnicas de histopatología en el estudio del corazón humano se han producido aportes importantes de investigadores como: Alonso y Scheidt (1) explican que en la zona del infarto se desarrolla un proceso enzimático que cambia rápidamente. Existe una zona marginal que rodea a la zona de necrosis, que está integrada por células en diversas etapas de deterioro.

Braunwald (6) demostró que el estado de necrosis celular, siempre aparece cuando se destruye por lo menos el 40% de la masa ventricular izquierda y el daño celular es progresivo.

Disminución del Consumo de Oxígeno por el Miocardio.

Las variables de las que depende el consumo de oxígeno por el miocardio pueden clasificarse en determinantes mayores y menores.

Las tres determinantes mayores son:

- 1) El gasto de oxígeno relacionado al desarrollo de tensión intramiocárdica.
- 2) El estado del ventrículo izquierdo.
- 3) La frecuencia cardíaca.

Las determinantes menores son:

- 1) Costo de oxígeno para un mantenimiento basal, para la despolarización y activación eléctricas.
- 2) El acortamiento de la fibra frente a una carga externa.

En este tema es importante conocer lo que es un agente inotrópico para entender la fisiología del corazón.

Agente inotrópico se define como toda sustancia ó causa fisiológica que aumenta el estado contráctil y el consumo -

de oxígeno del miocardio.

En forma opuesta, los agentes que deprimen el inotropismo reducirán el consumo de oxígeno del miocardio, Mueller (44).

Prueba de estudios hemodinámicos realizados por Mueller (44) demostró que el utilizar propranolol (medicamento -- que disminuye el consumo de oxígeno del miocardio) en pacientes con IAM que no tenían insuficiencia cardíaca clínica a su ingreso a la unidad coronaria, la administración intravenosa -- lenta de dosis de 0.01 mg./kg de peso produjo aumento en la -- producción y disminución de lactatos en el seno coronario, evi dencia metabólica de menor hipoxia celular.

No sólo eso, las mediciones hemodinámicas mostraron -- que el gasto cardíaco disminuía en forma significativa.

Estos datos son muy importantes por el temor de administrar un bloqueador beta adrenérgico en el IAM, que puede -- disminuir el inotropismo y empeorar la situación hemodinámica.

Es probable que estas acciones negativas del propranolol sean contrarrestadas por una mejoría en la contracción de un músculo con menor isquemia.

Desde luego deberá realizarse más estudios y experiencias antes de utilizar este medicamento como rutina, sobre todo si hay manifestaciones de insuficiencia cardíaca.

Estos estudios apoyan la hipótesis de que la demanda - miocárdica de oxígeno es un factor de importancia determinante en la evolución del tejido isquémico durante la oclusión coronaria aguda.

Entre los bloqueadores beta adrenérgicos de uso común en cardiología destacan el propranolol y el alprenolol.

El primero de ellos es el prototipo genérico de estos medicamentos, los demás siempre son comparados con él.

Dado que estos medicamentos actúan sobre la musculatura bronquial, producen broncoconstricción, por lo que deben usarse con cautela en pacientes con neopatas obstructivas o asma bronquial.

Por su parte los digitálicos aumentan la contractilidad y el consumo de oxígeno del corazón normal y aumentan la extensión de la isquemia.

Efectos similares se han informado con el empleo de -- glucagón, otro fármaco inotrópico. (33)

Sin embargo, en presencia de insuficiencia cardíaca - el efecto neto de la digital es la reducción del tamaño del infarto, de la tensión muscular y de la frecuencia cardíaca, con disminución consecuente del consumo de oxígeno. (61)

Watanabe y Lesch (61, 33, 38) han observado que se reduce el área de isquemia miocárdica después de la oclusión coronaria experimental con la infusión de propranolol en perros con insuficiencia cardíaca.

Aumento del Aporte de Oxígeno al Miocardio.

La perfusión coronaria mejora al elevar la presión -- diastólica aórtica con circulación asistida (59).

Otro método para incrementar la perfusión coronaria - es la revascularización con puentes aortocoronarios que pueden proveer un flujo sanguíneo hasta de 60 a 70 ml./min (42).

Los resultados inmediatos son contradictorios y en -- ocasiones se han producido con éste método infartos hemorrá- gicos de mayor tamaño, Bresnahan (8):

Los informes actuales no son suficientemente numero-- sos y aunque algunos son optimistas Cheavenchai (13), las con- clusiones no son definitivas y por lo tanto motivos de contro- versia.

No hay duda, sin embargo, que en pacientes con IAM el sistema disminuye.

Por otro lado, el riesgo de cirugía en pacientes con IAM es aún elevado. La tensión de oxígeno en la sangre arte-- rial es muy baja en muchos enfermos con IAM, especialmente si- existe insuficiencia cardíaca.

Un aumento en la fracción de oxígeno inspirado eleva el umbral para la aparición de infarto en pacientes con taquicardia inducida por estimulación eléctrica.

Recientemente lo demostró Masters (41) que la inhalación de oxígeno al 40% disminuye la zona de la lesión.

Protección de la Integridad Funcional y Estructural de la Célula Miocárdica.

Se han recomendado:

a) Sustancias capaces de generar energía por estimulación de la glucólisis.

b) Uso de una solución de glucosa-potasio-insulina.

c) Uso de hialuronidasa.

d) Uso de corticosteroides.

e) Uso de heparina.

a) Con el uso de sustancias capaces de generar energía por estimulación de la glucólisis, se ha observado una reducción de la hipoxia miocárdica al estimular el metabolismo anaerobio, mejorando el equilibrio fisiológico del corazón.

b) Uso de la solución de glucosa-potasio-insulina.

Pallares (58) demostró que es posible reintegrar el potasio al interior de las células del tejido isquémico mediante la administración de la solución de glucosa-potasio-insulina.

Con esta solución se restituye la polaridad celular a la vez que se obtiene mayor liberación de energía y las células vecinas toleran mejor la isquemia, al mismo tiempo que son menos excitables para producir arritmias.

Maroko (39) confirmó que el infarto era de menor tamaño en los animales que recibieron la solución de glucosa-potasio-insulina que los del grupo control.

Durante el infarto se ha demostrado:

a) Disminución en la utilización periférica de la glucosa (hiperglucemia), aumento en la cantidad de catecolaminas circulantes, y en parte debido a ello, aumento en la concentración de ácidos grasos no esterificados.

b) Se ha encontrado una correlación significativa entre los niveles de catecolaminas y los de los AGNE (ácidos grasos no esterificados), y el aumento de estos últimos pudiera tener relación con la producción de arritmias potencialmente letales, Oliver (47).

c) Se ha demostrado en el hombre, especialmente cuando su infarto cursa con insuficiencia ventricular izquierda o choque, que la secreción de insulina está disminuida y guarda una relación directa con el grado de deterioro ventricular.

c) Uso de la hialuronidasa.

Maroko (40) encontró inicialmente que la administración de hialuronidasa después de la oclusión coronaria experimental reducía el tamaño del infarto.

El mecanismo no es muy claro, se ha propuesto que facilita la difusión de sustratos a través de la membrana celular y que aumenta la permeabilidad capilar.

d) Uso de corticosteroides.

Se consideran protectores del miocardio esquémico.

Dosis farmacológicas de hidrocortisona aparentemente han mostrado utilidad en estudios experimentales y en ensayos clínicos, Libby (34).

El mecanismo de acción tampoco es conocido. Se postula un efecto protector de los lisosomas que en estados de hipoxia liberan hidrolasas acidificantes que pueden contribuir a la irreversibilidad del daño celular precoz.

Por lo tanto, los esteroides disminuirían teóricamente la autólisis celular. Se dice además que al estabilizar la actividad fagocítica de las células inflamatorias disminuye el -

edema celular.

e) Uso de la heparina.

Saliba (56) demostró tanto experimentalmente como en el hombre con IAM, que la administración de heparina en dosis-clínicas produce disminución significativa en la elevación del enzima CK (creatín cinasa), al igual que disminución considerable (32%) en la evidencia histológica de necrosis.

CAPITULO IV
METODOLOGIA EN EL LABORATORIO DE .
LA FRACCION HDL-COLESTEROL

Metodología analítica y propiedades fisicoquímicas de las lipo--
proteínas.

La metodología analítica de las lipoproteínas incluye las siguientes técnicas:

- a) Ultracentrifugación.
- b) Electroforesis, en distintos medios de soporte.
- c) Doble difusión.
- d) Métodos inmunológicos.
- e) Precipitación con polianiones.
- f) Inmunolectroforesis.

Los diferentes métodos separativos se basan en las --
distintas propiedades fisicoquímicas de las lipoproteínas.

- a) Densidad.

Esta propiedad, que comprende un intervalo entre 0.90 y 1.25 g/ml, hace posible la separación de las lipoproteínas por medio de la ultracentrifugación.

La capacidad de separación está linealmente relacionada con el producto de la fuerza gravitacional por el tiempo.

Por esta razón, Dole y Hamlin (15) establecieron que las condiciones de ultracentrifugación (UC) sean expresadas en términos de gravedad (g), para la lipoproteínas son necesarias de 90000 a 120,000 g, y generalmente de 16 a 24 horas, para -- una determinada densidad del solvente.

b) Tamaño.

El tamaño hace posible la separación lipoproteica por filtración a través de geles y de membranas filtrantes con poros específicos.

La circunstancia de que las lipoproteínas posean tamaños tan dispares se utiliza también combinándola con la separación electroforética, como ocurre en el gel de poliacrilamida, en el que ciertas macromoléculas como las VLDL, se ven dificultadas, por impedimentos estéricos, para desplazarse.

c) Carga eléctrica.

Permite el fraccionamiento electroforético al ser colocadas las lipoproteínas bajo la acción de un campo eléctrico.

La carga neta de una molécula, que determina su movilidad, depende en forma estrecha del balance de cargas eléctricas en los aminoácidos terminales y de los residuales de las cadenas laterales.

Poco o nulo es el aporte de los fosfolípidos porque el 90% de ellos son la lecitina y la esfingomielina, que existen como zwitteriones sin carga neta al pH fisiológico y al electroforético (8.4-8.6). Sólo las pequeñas cantidades de cefalina (fosfatidiletanolamina) y fosfatidilserina pueden contribuir a la carga negativa de las macromoléculas.

En resumen, puede afirmarse que la carga dependerá entonces del contenido proteico de cada macromolécula, así como del péptido (A, B, ó C) que forma parte de ella.

d) Interacción con macromoléculas.

Las lipoproteínas pueden interactuar químicamente con una gran variedad de macromoléculas iónicas y no iónicas.

Así una gran cantidad de polisacáridos sulfatados, en presencia de cationes divalentes, como el Mn, Co, Mg y Ca, logran precipitar las VLDL, QM, LDL, e IDL en forma selectiva \bar{c} -total.

e) Propiedades Antigénicas.

Las apoproteínas de las distintas fracciones lipoproteicas permiten la obtención de antisueros específicos anti-B y anti-C, haciendo así posible la individualización y cuantificación por técnica de inmunolectroforesis, inmunodifusión radial e inmunolectrodifusión.

Método de separación de lipoproteínas en gel de agarosa.

En 1968, Noble (46) propuso el uso de gel de agarosa como medio de soporte para la separación de lipoproteínas.

La agarosa es un polímero lineal de la galactosa, obtenida por procesos de acetilación y saponificación del agar, con posterior purificación, que permite la eliminación de los grupos aniónicos presentes, especialmente los sulfatos.

Con estos procesos se logra una reducción importante de la interacción entre el medio de soporte y las lipoproteínas, disminuyendo la velocidad de electroendósmosis.

Hasta el presente, este medio de soporte debe ser considerado ideal, por cuanto permite una clara resolución de las distintas fracciones lipoproteicas, coincidiendo sus resultados con los obtenidos por ultracentrifugación.

La metodología es sencilla y no requiere aparatos que no sean de uso corriente en los laboratorios de análisis clínicos.

Método de Paglione, Banchik, Mollerach y Wikinski. - - (46).

Condiciones de la muestra.

Las muestras de suero deben ser conservadas en refrigeración a 4 grados centígrados y nunca deberán ser congeladas.

La razón de tal prohibición reside en el carácter estructural de las macromoléculas ya que se trata de lípidos unidos a proteínas por enlaces de tipo covalente, por interacción de fuerzas de Van der Waals y por enlaces de puente ión hidrógeno, en los cuales intervienen moléculas de agua.

La congelación produce cristalización de estas últimas , originándose la ruptura de la estructura lipoproteica.

Sí la determinación no se lleva a cabo dentro de las 48 horas de obtenida la muestra es conveniente agregar al suero 1 mg de EDTA por cada ml de aquél para sustraer por quelación algunos cationes que favorecen la oxidación y degradación de ciertas lipoproteínas.

No es conveniente utilizar sueros de más de 5 días de obtenidos, puesto que aparece una apreciable capa lipídica de la fracción prebeta.

El suero debe estar libre de hemólisis y no debe es--

tar ictérico.

Reactivos.

1.- Amortiguador de Veronal.

pH = 8.6 fuerza iónica = 0.05

Veronal sódico.....	10.30 g
Veronal.....	1.34 g
Agua destilada c.b.p.....	1000 ml

2.- Solución de agarosa.

Agarosa.....	0.60 g
Amortiguador de veronal.....	100 ml
c.b.p.	100 ml

3.- Solución fijadora.

Alcohol etílico.....	670 ml
Alcohol metílico.....	15 ml
Alcohol isopropílico.....	15 ml
Agua destilada.....	300 ml

4.- Solución Colorante.

Sudán negro.....	0.15 g
Acetato de Zinc.....	0.10 g
Etolanol.....	60 ml
Agua destilada.....	40 ml

Material.

- a) Portaobjetos previamente desengrasados.
- b) Equipo de electroforesis.

Técnica.

1). Se funde la agarosa y se depositan dos mililitros en cada portaobjetos.

2). Se forma una canaleta en la agarosa y se depositan 10 microlitros de suero.

3). Se colocan los portaobjetos en la cámara de electroforesis, estableciendo los puentes con papel de filtro bien embebidos en el amortiguador y se aplica una corriente eléctrica de 7 mA de intensidad por línea de portas a correr.

4) La corrida electroforetica se completa entre los-
50 y 65 minutos.

La precoloración del suero permite visualizar el fren
te, de forma que, cuando el desplazamiento sea de 2.5 a 3 cm
a partir del lugar de siembra, se de por terminada la corrida.

5) Se interrumpe la corriente y se colocan los porta
objetos en la solución fijadora, donde se dejan de 2 a 24 ho--
ras según conveniencia.

6) Se secan en la estufa entre 37 y 60 grados centí-
grados, para lograr una deshidratación homogénea evitándose la
absorción de las lipoproteínas por el papel.

7) Se colorean los portaobjetos dejando el colorante
entre 40 y 60 minutos.

8) Se lavan con agua y se dejan secar.

9) Se observa ópticamente y/o por densitometría.

Valores de referencia.

Obtenidos por densitometría.

Beta lipoproteínas.....	51 [±] 6 %
Prebeta lipoproteínas.....	hasta 20 %
Alfa lipoproteínas.....	37 [±] 6 %

Método de separación de lipoproteínas en gel de poliacrilamida.

Este método de separación lipoproteica se distingue - de los que utilizan otros soportes, porque combina dos propiedades físicas de las lipoproteínas:

- a) La carga eléctrica.
- b) El tamaño molecular.

Narayan y col. en 1965 (45) fueron los pioneros en su empleo, al demostrar el alto grado resolutivo que posee.

El tamaño molecular de las distintas fracciones lipoproteicas es distinto:

QM > VLDL > IDL > LDL > HDL

Con posterioridad, Dangerfield (32), hizo un estudio minucioso de estas fracciones, logrando identificar hasta 5 en la posición entre las beta y prebeta lipoproteínas, en el caso de un paciente hiperlipoproteínémico.

En sueros normales no pudo hallar nunca más de 4 fracciones.

Método de Halpirin, Stoliar, Grosman y Wikinski (36).

Condiciones de la muestra.

Debe de utilizarse en lo posible suero fresco que se preteña con Sudán negro.

Es conveniente realizar el preteñido 24 horas antes de la corrida, guardando en hielo a 4 grados centígrados. Antes de ser utilizada la muestra debe centrifugarse a 4000 r.p.m. durante 15 min.

El suero debe estar libre de hemólisis y no debe estar icterico.

Reactivos.

a) Solución A.

TRIS.....	18.15 g
HCl (1 N)	24 ml
Agua destilada.....	50 ml

La solución es estable en frascos oscuros y a 4 grados centígrados.

b) Solución B1.

Acrilamida.....	.30	g
Bisacrilamida.....	0.80	g
Agua destilada c.s.p.....	100	ml

La solución es estable en frascos oscuros y a 4 grados centígrados.

c) Solución B2.

Acrilamida.....	25.5	g
Bisacrilamida.....	1.5	g
Agua destilada c.s.p.....	100	ml

d) Solución de persulfato de amonio.

Persulfato de amonio anhidro.....	140	mg
Agua destilada c.s.p.....	100	ml

e) Amortiguador de corrida.

TRIS.....	<u>6</u>	g
Glicina.....	26.8	g
Agua destilada c.s.p.....	100	ml

Diluir 1: 10 antes de usar pH = 8.3

f) Preparación de los geles.

	Gel de poliacrilamida al 6.7% en 0.18% de bisacrilamida.	Gel de poliacrilamida al 3% en 0.15% de bisacrilamida.
Solución A	2 ml	2 ml
Solución B1	3.5 ml	-----
Solución B2	-----	1.5 ml
Solución de persulfato de amonio.	8 ml	8.0 ml
Agua destilada	2.5 ml	2.5 ml

g) Colorante.

Sudán negro.....	1 g
Etilén glicol c.b.p.	100 ml

Material

- a) Tubos de 15 cm de largo x 7 mm de diámetro.
- b) Equipo de electroforesis.

Técnica.

Muestra a sembrar: 50 microlitros.

Intensidad de corriente: 6 mA/gel.

Tiempo de corrida (aprox.): 90 min.

Una vez que la banda beta ha llegado a la zona de - -
separación entre ambos geles, se detiene el paso de la corriente
te.

Los tubos pueden ser inspeccionados ópticamente ó por
densitometría.

Método de separación de lipoproteínas por precipitación con polianiones.

Berfeld, Burstein y Oncley (4, 10, 48), para lograr la separación de los complejos lipoproteicos utilizaron, respectivamente amilopectina sulfatada, dextrán sulfato y heparina.

Sin embargo, no sólo reaccionan las lipoproteínas con los polisacáridos sulfatados, sino que también lo hacen otras proteínas.

Berfeld (5), demostró que con bajas concentraciones de polisacáridos en el rango de pH de 7.5 a 8.6, sólo se forman complejos con las beta lipoproteínas.

Estos complejos serán solubles ó insolubles, dependiendo del grado de polimerización, de la naturaleza química del polisacárido usado, y en muchos casos, de la presencia o no en el medio de un catión divalente.

En combinación o no con cationes divalentes, además de los polisulfatos se puede utilizar para precipitar a las lipoproteínas:

- a) Polifosfatos y cationes divalentes.
- b) Tetraciclinas y cationes divalentes.
- c) Detergentes aniónicos y cationes divalentes.
- d) Detergentes catiónicos y heparina.

Condiciones para la precipitación lipoproteica.

- a) Reactivo precipitante.
- b) Cation divalente.
- c) Fuerza iónica.
- d) pH.

Efecto del pH.

El mejor trabajo demostrado de este efecto es el de -
Burstein y Scholnick (11).

La precipitación de las lipoproteínas se logró en los
siguientes intervalos de pH:

LDL -----	6.30 - 5.50
VLDL-----	5.50 - 5.20
QM-----	5.40 - 5.00
HDL-----	4.70 - 3.90
Fuerza iónica = 0.05	

TABLA Núm VI

CONDICIONES DE PRECIPITACION DE LAS
LIPOPROTEINAS (11)

	QM + VLDL	LDL	HDL
Heparina Mg^{++} Ca^{++}	0.25 % 0.1 M	no pre- cipita.	no pre- cipita.
Heparina Mn^{++} Co^{++}	0.01 % 0.05 M	0.1 % 0.05M	no pre- cipita.
Dextrán sulfato Mn^{++} Co^{++}	0.007% 0.025M	0.05% 0.025M	0.65 % 0.2 M
Dextrán sulfato Mg^{++} Ca^{++}	0.01 % 0.1 M	0.1 % 0.1 M	no pre- cipita.
Fosfotungs- tato de Na Mg^{++}	0.05 % 0.1 M	0.2 % 0.1 M	2% 0.2 M

Cuanto mayor es la fuerza iónica o la concentración de heparina, menor pH se requiere.

Los resultados confirmaron que las LDL son las tipo--proteínas que son más fácilmente precipitables.

Método de precipitación de la B-VLDL.

Técnica de Wieland y Siedel (62).

Condiciones de la muestra.

Debe de utilizarse en lo posible suero fresco de no más de 48 horas.

El suero debe estar libre de hemólisis y no debe estar icterico.

Reactivos.

a) Los mismos utilizados en el fraccionamiento electroforético en gel de agarosa.

b) Agarosa al 1 % en vez del 0.6 %.

c) Solución precipitante.

Heparina.....	1.5	g/l
NaCl anhidro.....	10.0	g/l
Cloruro de manganeso.....	0.1	g/l

Material.

- a) Portaobjetos bién desengrasados.
- b) Equipo de electroforesis.

Técnica.

- a) Cantidad sembrada: 20 microlitros.
- b) Una vez realizado el fraccionamiento electroforético, la placa sin fijarla se sumerge en la solución precipitante durante 30 minutos.
- c) Se observa con luz oblicua la presencia de la banda B-VLDL, abarcando la posición B-prebeta.

Determinación del colesterol de las HDL (alfalipoproteínas) -
por método químico, (9, 10).

Se logra la precipitación de las fracciones LDL y - -
VLDL con el uso de una solución de heparina-cloruro de manganes
so.

La HDL permanece en solución y en el sobrenadante se-
valora el contenido de colesterol usando una técnica extractiv-
va, método de Leffler (13).

El valor obtenido representa el contenido de coleste-
rol de la fracción HDL.

Condiciones de la muestra.

Debe de utilizarse en lo posible suero fresco de no -
más de 24 horas, libre de hemólisis y que no este ictérico.

Reactivos.

a) Los utilizados para la determinación del coleste-
rol total (31).

b) Soluciones precipitantes.

Heparina.....	5 g/100 ml
Cloruro de manganeso.....	0.1g/100 ml
Agua destilada c.b.p.....	100 ml

Material.

- a) Tubos de centrifuga.
- b) Equipo para determinar colesterol total.

Técnica.

- a) En tubos de centrifuga medir 1 ml de suero, y añadir 1 ml de solución precipitante.
- b) Mezclar a que aparezca turbiedad.
- c) Centrifugar durante 10 a 15 minutos a 6000 r.p.m.
- d) Del sobrenadante que debe ser claro, valorar el colesterol a partir de esa fracción obtenida, libre de LDL y VLDL.

Valores de referencia.

130 a 250 mg/dl

Método de Leffler (31).

Se extrae el colesterol del suero o plasma con mezcla de Bloor ó con alcohol isopropílico. En una alícuota del extracto se practica la reacción de color con cloruro férrico en medio de ácido sulfúrico.

Condiciones de la muestra.

El suero debe estar libre de hemólisis y no debe estar ictérico.

Reactivos.

I. Alcohol isopropílico (p.a.)

Si se prefiere la mezcla de Bloor prepararla con:

Eter etílico.....	1 volumen
alcohol etílico.....	3 volúmenes

2. Acido sulfúrico (p.a.).

3. Reactivo de color.

FeCl ₃ · 6 H ₂ O	25	mg
Acido acético glacial.....	100	ml

Conservar en frasco oscuro.

4. Solución estándar de colesterol. Concentración 1 mg/ml

Colesterol.....	100	mg
Alcohol isopropílico.....	100	ml

Disolver el colesterol en el alcohol isopropílico y -
conservar en refrigeración.

5. Solución estándar de trabajo.

Solución estándar de colesterol.....	2	ml
Alcohol isopropílico.....	25	ml

Técnica.

En un tubo de centrifuga colocar 0.2 ml de suero o --
plasma y completar con alcohol isopropílico 5 ml Agitar la -

mezcla, dejar en reposo 10 minutos y centrifugar.

Tomar 1 ml del extracto y colocar en un tubo

Preparar 2 tubos para el testigo y el blanco, conteniendo respectivamente, 1 ml de la solución estándar de trabajo y 1 ml de alcohol isopropílico

Agregar a cada tubo 2 ml del reactivo de color. Mezclar y agregar por las paredes del tubo 2 ml de ácido sulfúrico, tapar e invertir para mezclar. Dejar 10 minutos y leer a 540 nm.

Cálculos

$$\frac{E \text{ desconocida}}{E \text{ estándar}} \times 200 = \frac{\text{mg de colesterol/dl}}{\text{mg de colesterol/dl}}$$

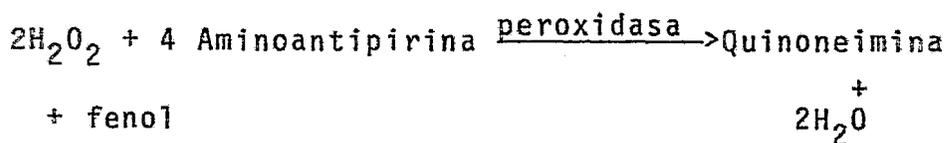
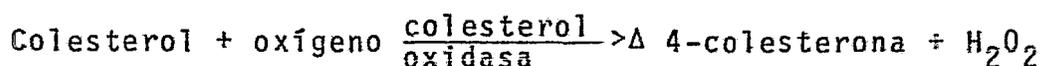
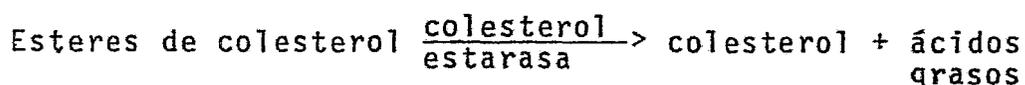
Valores de referencia.

150 a 250 mg/dl

Determinación del colesterol de las HDL (alfalipoproteínas) -- por método enzimático, (10).

Método enzimático de Roschlau, Bernt y Gruber modificado por Burstein. (10).

Las lipoproteínas LDL y VLDL del plasma o suero humano son precipitadas por el sulfato de dextrana y el acetato de magnesio. Las fracciones LDL y VLDL son separadas por centrifugación. La fracción de HDL permanece en solución y en el sobrenadante se valora el contenido de colesterol usando una secuencia de reacciones enzimáticas:



Condiciones de la muestra.

Debe de utilizarse en lo posible suero fresco de no más de 24 horas, libre de hemólisis y que no este iclérico.

Reactivos.

a) Soluciones precipitantes.

Sulfato de dextrana.....	1 mg/lt
Acetato de magnesio.....	14.2 mg/lt

b) Las soluciones para desarrollar la técnica enzimática están incluidas en un equipo comercial que ofrece reactivos en -- cantidad suficiente para 50 pruebas y su contenido es: 4 -- frascos de mezcla de reactivos cuyos componentes son:

1. Amortiguador de fosfatos pH = 7.9	200	mmol/lt
2. 4-aminofenazona	1	mmol/lt
3. Fenol	5	mmol/lt
4. 3,4-diclorofenol	5	mmol/lt
5. Eter poliglicólico	0.48	mmol/lt
6. Colesterol esterasa	0.1	U/ml
7. Colesterol oxidasa	0.14	U/ml
8. Peroxidasa	0.12	U/ml

Cada frasco se reconstituye con 32 ml de agua destilada para disolver los constituyentes.

Material.

- a) Gradilla de metal para 40 tubos de 13 x 100 mm.
- b) Pipetas automáticas de 20 microlitros.
- c) Dispensador automático de líquidos.
- d) Celdas de cuarzo de 1 cm de paso de luz.
- e) Centrífuga refrigerada.
- f) Espectrofotómetro visible-ultravioleta.
- g) Reloj de intervalos de 1 hora.

Técnica.

- a) En tubos de centrífuga medir 1 ml de suero, y añadir 1 ml de solución precipitante.
- b) Mezclar a que aparezca turbiedad.
- c) Centrifugar durante 10 a 15 minutos a 6000 r.p.m.
- d) Del sobrenadante que debe ser claro, valorar el colesterol enzimáticamente a partir de esa fracción obtenida, libre de LDL y VLDL.
- e) En tubos de vidrio de 13 x 100 mm por separado se miden 20 microlitros del sobrenadante control y de los problemas.
- f) A cada tubo de los anteriores se agregan 2 ml de la solución que contiene todas las enzimas y los reactivos de --

coloración.

g) Se mezcla suave y completamente cada tubo por inversión, evitando la formación de espuma.

h) A continuación se ponen en reposo a temperatura ambiente y transcurridos 20 minutos puede determinarse su absorbancia en el espectrofotometro en células de 1 cm de paso de luz a 500 nm contra un blanco de reactivos.

Cálculos.

$$\text{Colesterol (mg/dl)} = \frac{A_p \cdot \bar{0} \cdot A_s}{A_{st}} \times 50$$

A_p = Absorbancia del problema.

A_s = Absorbancia del control.

A_{st} = Absorbancia del estandar.

Concentración de la solución estándar = 50 mg/dl

Valores de referencia.

Hombres: 26 a 66 mg/dl

Mujeres: 30 a 75 mg/dl

RESUMEN

En el presente estudio se revisaron de una manera general los aspectos estadísticos de las enfermedades cardiovasculares que ocurren a nivel nacional en los diferentes estados de la República Mexicana para señalar la importancia de las enfermedades del corazón en nuestro país.

Se analizó la síntesis y metabolismo de las lipoproteínas dándole importancia a los factores que influyen en su metabolismo ó que regulan su síntesis.

Se estableció la importancia de la dieta en los niveles lipídicos, así como la posibilidad de que se encuentren factores hereditarios en el infarto agudo del miocardio.

Se señala la importancia de los signos y síntomas clínicos de insuficiencia coronaria así como las maniobras sistemáticas de carácter preventivo como medidas de protección del miocardio isquémico.

Se recomiendan las técnicas de laboratorio que presentan precisión y exactitud acorde a un laboratorio de análisis clínicos en una unidad coronaria en donde se requiere eficiencia en el servicio.

CONCLUSIONES

De manera general se puede establecer las conclusiones a que se llegó en el presente estudio son las siguientes:

1. A nivel nacional en México en relación con las diferentes causas de mortalidad provocadas por diferentes --- agentes etiológicos, las enfermedades cardiovasculares ocupan el tercer lugar de mortalidad en México.

2. Por estados de la República Mexicana se observa que las enfermedades cardiovasculares se incrementan con el -- aumento de la población y la evolución en su nivel de vida -- cuando tienen mayores situaciones de stress y una alimenta- - ción rica en grasas y colesterol.

3. Las recomendaciones dietéticas generales son:

- a) Mantenimiento del colesterol de la dieta dentro de los - 200 a 350 mg./día.
- b) Moderado ó consumo restringido de grasas saturadas.
- c) Reemplazo de la grasa saturada por la insaturada.
- d) Evitar la ingesta excesiva de hidratos de carbono y en - forma especial de los azúcares.

e) Reducción del peso corporal, aún en aquellos medianamente obesos.

4. No ha sido demostrado relación hereditaria de padres a hijos en cuanto a producirse un infarto agudo del miocardio. Por lo que genéticamente no se ha identificado un gen que codifique esta información y se manifieste en el fenotipo.

5. El HDL-colesterol se altera en personas con hábito de fumar, es un factor predisponente de riesgo coronario - con frecuencia se encuentran disminuidos los niveles de HDL - colesterol.

6. Se ha comprobado que una baja en los niveles de HDL-colesterol predisponen a la enfermedad coronaria.

7. Durante el infarto se ha demostrado:

a) Disminución en la utilización periférica de la glucosa - (hiperglucemia).

Aumento en la cantidad de catecolaminas circulantes y en parte debido a ello, aumento en la concentración de ácidos grasos no esterificados.

b) Se ha demostrado en el hombre especialmente cuando su

infarto agudo cursa con insuficiencia ventricular izquierda, que la secreción de insulina está disminuida y guarda relación directa con el grado de deterioro celular.

BIBLIOGRAFIA

1. Alonso D.R.; Scheidt S. ; Post M. ; Killip T. Pathophysiology of cardiogenic shock. Quauunfification of myocardial necrosis, clinical, pathologic and electrocardiographic correlations. Circulation 48: 588-1973.
2. Anderson N.; Fawcett B. Risk factors of arteriosclerosis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74: 768. 1978.
3. Bennett W. M. y cols. Physical activity and coronary heart disease. Arch. Int. Med. 135: 964. 1975.
4. Bernfeld P. y cols. High and low density lipoprotein cholesterol in myocardial and cerebral infarction. Fed.-Proc. Amer. Soc. Exp. Bio. 14: 182. 1977.
5. Bernfeld P.; Kelley T. High and low density lipoprotein cholesterol in myocardial infarction. J. Biol. Chem. -- 239:3341. 1974.
6. Braunwald E. y cols. Protection of the ischemic myocardium. American heart Assn. Monograph 48 Circulation 51. 1976.

7. Braunwald E. y cols. The determinants of myocardial -- oxygen consumption. *Physiologist* 12:65. 1978.
8. Bresnahan G. F.; Shell W. E.; Ross J. *Physiologist* 12:-43. 1977.
9. Burstein M.; Samaille J. Serum cholesterol and high density lipoprotein-cholesterol. *Clin. Chem. Acta* 3:320. - 1979.
10. Burstein M.; Scholnick H.; Serum cholesterol and high - density lipoprotein-cholesterol. *Adv. in lipid reseach. reseach. Vol. 11:583. 1974.*
11. Burstein-M.; Scholnick H. Serum cholesterol and high - density density lipoprotein-cholesterol. *Adv. in lipid - reseach. Vol 11:80. 1978.*
12. Case J. W.; Braunwald E. Serum cholesterol and high density lipoprotein-cholesterol. *J. Clin. Inves.* 45:1535. -- 1977.
13. Cheavenchai C.; Effler D. B. Physical activity and coronary heart disease. *Amer. J. Cardiol.* 32:901. 1976.
14. Craig I. H.; Wiklund O.; Scand J. May. Variations in --

- apolipoproteins B and A_I during the course of myocardial infarction. J. Clin. Lab. Invest. 40 (3):239-47. -- 1980.
15. Dole V.; Hamlin J. High density lipoproteins in myocardial infarction survivors. Physiology 42:674. 1977.
 16. Estadísticas vitales, SPP (Secretaría de Programación y Presupuesto), 1975-82.
 17. Ewy R. V. Serum triglycerides and high density lipoprotein cholesterol in healthy persons and in coronary patients. Circulation 40:271. 1978.
 18. Fisemberg S.; Levy R. Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis. Adv. in lipid-Reseach 13:1. 1976.
 19. Franz ENJ.; Fex G. High density lipoprotein composition versus heredity for acute myocardial infarction in middle-aged males. Acta Med. Scand. 211 (1-2): 121-4. 1982
 20. Glomset J. A. Blood lipids and lipoproteins. Qualification, composition and metabolism. Ed. Wiley, New York. - 1977.

21. Goldbourt U.; Medalie J. H. High density lipoprotein - cholesterol and incidence of coronary heart disease. Lancet 1 (8122): 901-3. 1979.
22. Greten H.; Levy R.; Fredrickson D. Chemical composition - of ultracentrifugal fractions in different patterns of hu man atherosclerosis. Bioch. Bioph. Acta 164:185. 1978.
23. Hamilton R.I.; Kavden H.J. The liver and the formation- of normal and abnormal plasma lipoproteins. Adv. Exp. -- Med. Biol. 26:7. 1977.
24. Havel R.; Kane J.; Kasvap H. High density lipoproteins - in myocardial infarction survivors. J. Clin. Inv. 52:32. 1978.
25. Hazzard W. R.; Erkelens D. N. HDL Cholesterol as a risk- factor for arteriosclerosis. Jama 24 (20): 2185-9. 1979
26. Heldenberg D.; Rubenstein A.; Levtov O.; Berns L. Werbin B. Apr.. Serum lipids and lipoprotein concentrations du- ring the acute phase of myocardial infarction. Atheros-- clerosis 35 (4):433-7. 1980.
27. Hochberg H. M. Characteristics and significance of pro-- thrombes of coronary care unit patients. Chest 59:10-14. - 1977.

28. Kaltman A. K. The HDL: the good cholesterol carriers. - Amer. Heart. J. 81:837. 1977.
29. Kaukola S.; Manninen U.; Halonen P. I. Serum lipids with especial reference to HDL cholesterol and triglycerides- in young male survivors of acute myocardial infarction.- Acta Med. Scand 208 (1-2):41. 1980.
30. Kohout M.; Kohoutova B.; Himberg M. High density lipoprotein cholesterol in survivors of myocardial infarction. J. Biol. Chem. 246:5067. 1980.
31. Leffler H.; High and low density lipoprotein cholesterol in myocardial infarction. Amer. J. Clin. Pathol. 31:310. 1977.
32. Leinbach B. C.; Buckley N.J. The high occurrence of low-density lipoprotein subfractions in coronary heart disease. Circulation 44:24. 1977.
33. Lesch R. C.; Gold H. K. Response of plasma lipoproteins- and acute phase proteins to myocardial infarction. Circulation. 48:100. 1978.
34. Libby P.; Maroko P. High density lipoprotein cholesterol in survivors of myocardial infarction. J. Clin. In--

vest. 52:599. 1976.

35. Linedgren F. T.; Jensen L. C.; Wills R. D. Correlations between intravenous fat tolerance and serum lipoproteins in normal and atherosclerotic subjects. *Lipids* 7:194. -- 1977.
36. Loven B. y cols. Heparin and atherosclerosis. *Am. J. -- Cardiol.* 10:223. 1978.
37. Machebouf M. y cols. HDL-cholesterol and coronary heart-disease. *Bull. Soc. Chem. Biol.* 11:268. 1976.
38. Mendel W. M.; Bigger J. T.; Marked decrease in serum HDL cholesterol level during acute myocardial infarction -- *Am. J. Cardiol.* 25:113. 1976.
39. Maroko P. R.; Libby P. Serum lipids and lipoprotein concentrations during the acute phase of myocardial infarction. *Amer. J. Cardiol.* 32:930. 1977.
40. Maroko P.R.; Sobel B.E.; Serum lipids and lipoproteins-concentrations during the acute phase of myocardial in--farction. *Circulation* 46:323. 1978.
41. Masters T.A.; Norris B.; Donald G. Hall. High density lipoprotein

- poprotein cholesterol in survivors of myocardial infarction. Am. J. Cardiol. 37:577. 1976.
42. Meister S.G.; Engel T.R.; Britz H.J. HDL cholesterol and coronary heart disease. Am. J. Cardiol. 38:1031. 1978.
43. Mueller H.; Ayers S.M.; Gregory J.J. Lipoproteins and -- the risk for myocardial infarctions. J. Clin. Invest. - 49:1885. 1977.
44. Mueller H.; Mazzara J. y Ayers S.; Lipoproteins and the risk for myocardial infarctions. Circulation 46:323. -- 1978.
45. Narayan; Kummerov;. Chemical composition of ultracentrifugal fractions of the different lipoproteins. Clin. - Chem. Acta 23:189. 1978.
46. Noble P.R.; Heparin and atherosclerosis. J. Lipid. Res - 9:693. 1968.
47. Oliver R.; spinazzola A.; Alpha lipoproteins cholesterol concentration in relation to subsequent myocardial infarction in hypercholesterolemic men. Circulation. 46:-- 195. 1978.

48. Oncley J.; Walton K.; Cornwell. HDL-cholesterol as a - - risk factor for arteriosclerosis. Meet. Amer. Chem. Soc. Minneap. 428:15. 1977.
49. Pometa D.; Micheli H.; Raymon L.; Oberhaensli I.; Suen--ram A.; Decreased HDL-cholesterol in prepubertal and pu--bertal children of CHD patients. Atherosclerosis 36 (1) :101-9. 1980.
50. Portman O.W.; High density lipoproteins in myocardial - infarction survivors. Bioph. Acta 220:281. 1977.
51. Pratt; Dangerfield;. Quantitation of human serum apo lipoprotein AI by electroimmunoassay. Clin. Chem. Acta 51:--173. 1974.
52. Quarfordt S.; Boston F.; Alpha lipoprotein cholesterol le--vels in relation to acute myocardial infarction and its - risk factors. Bioch. Bioph. Acta 231:290. 1977.
53. Rabkin S.W.; Ledwich R.; Mymin D.; Myocardial infarction in familial hyper-alpha and hypobeta-lipoproteinaemia. - Postgrad Med. J. 57 (668):385-9. 1981.
54. Roberts R.; Sobel B.E.; Isoenzyme of CK and the disgnoc--sis of acute myocardial infarction. Am. Intern. Med. --

79:741-43. 1973.

55. Robinson D.; Jennigs M.; Determination of cholesterol - and phospholipids of HDL 2, HDL 3 and VLDL in patients - with atherosclerosis. Am. J. Cardiol. 37:559. 1976.
56. Saliba M.J.; Covell J.W.; Determination of cholesterol - and triglycerides of HDL 2 in patients with atherosclero_usis. Am. J. Cardiol. 37:625. 1977.
57. Shapiro Mario; Meaney Eduardo; Acute myocardial infarc--tion. 4a. Impresión, Ed. Wiley New York. 1981.
58. Sodi y Pallaes D.; Bistení A.; HDL-cholesterol as a --risk factor for myocardial infarction. Dis. Chest. 43:--424. 1978.
59. Solomon H.A.; Edwards A.L.; Prodromata in acute myocar--dial infarction. Circulation 40:463-71. 1978.
60. Suter E.; Mayno G.; Physical activity in acute myocar- -dial infarction. J. Cell. Biol. 27:163. 1978.
61. Watanabe T.; Covell J.W.; Maroko P.R.; HDL cholesterol - and coronary heart disease. Am. J. Cardiol. 30:371. 1973.

62. Wieland H.; Siedel D.; High density and low density lipoprotein in survivors of myocardial infarction and in control subjects. Clin. Chem. 19:1139. 1979.