

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**DETERMINACION DE LIPIDOS TOTALES Y
FOSFOLIPIDOS EN INFARTOS AL MIOCARDIO**

60

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

GLORIA CARRASCO GOMEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO OFICIALMENTE:

Presidentes: Q.F.B. Fernando Velez Orozco
Vocal: Q.F.B. Etelvina Medrano de Jaimes.
Secretario Q.F.B. Dea Coronado Perdomo.
1er. Suplente Q.F.B. Ma Elena Bustamante Calvillo.
2do. Suplente Q.F.B. Mario Miranda Castro.

TEMA DESARROLLADO EN LOS LABORATORIOS

" DEMYLE CONSULTORIAS MEDICAS S.A."

SUSTENTANTE: Srita. Gloria Carrasco Gómez.

Asesor del Tema: Prof. Q.F.B. Dea Coronado Perdomo.

A mis Padres con cariño.

A mi Esposo que hizo posible ésta.

A mis Maestros por su ayuda.

I N D I C E

	Págs.
C A P I T U L O I.- INTRODUCCION.	1
C A P I T U L O II.- GENERALIDADES.	5
C A P I T U L O III.- MATERIAL Y METODOS.	38
C A P I T U L O IV.- RESULTADOS	46
C A P I T U L O V.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.	53
C A P I T U L O VI.- BIBLIOGRAFIA.	58

CAPITULO I

INTRODUCCION.

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N .

Por las investigaciones y conocimientos logrados se les ha — atribuido a los lípidos un papel esencial e importantísimo en la — Bioquímica Clínica y en la fisiología del cuerpo humano, por esta razón, los clínicos admiten cada vez más la importancia de ellos.

Influyen los efectos de la dieta (en personas obesas, diabéticas etc.) y la herencia, que si bien no están aclarados e investigados, si merecen interés creciente cada día.

Los lípidos totales (fosfolípidos, triglicéridos, ácidos grasos-libres, ácidos-grasos-esterificados, colesterol, ésteres de — colesterol), son de origen endógeno o exógeno y son metabolizados, transportados y modificados.

Debido a los adelantos logrados en el estudio de los lípidos durante las dos últimas décadas, sabemos que son transportados como componentes de moléculas complejas, llamadas lipoproteínas (cantidades diversas de proteínas y lípidos se combinan para formar los diferentes tipos de lipoproteínas).

El interés por los lípidos se centró inicialmente en el colesterol, que aunque no es lípido actúa como tal; y es el esteroide más abundante en el hombre. Más tarde se vio que las otras fracciones

de los lípidos totales, los Ácidos-Grasos-Libres, Ácidos-Grasos-Esterificados, Triglicéridos, Lipoproteínas y Fosfolípidos, también tienen un interés marcado debido a las variaciones que de ellos se han encontrado en los diferentes padecimientos.

Recientemente se crearon métodos analíticos para determinar -- fosfolípidos y triglicéridos. En la actualidad se consideran los - fosfolípidos, triglicéridos y el colesterol como las fracciones lípidicas más importantes en la sangre.

Durante más de medio siglo, la mayor parte de los investigadores han dirigido su atención al estudio de los lípidos, por considerarlos de mayor interés para los clínicos, por lo que nosotros vamos a considerar los aspectos fisiopatológicos de ellos en el infarto al Miocardio.

El infarto al miocardio se ha considerado como enfermedad representativa de nuestro tiempo y es la primera causa de mortalidad en los países más industrializados y la cuarta en el nuestro; además debido a que siempre afecta a las personas más productivas o en su período más productivo para su sociedad o familia; representa un padecimiento con una epidemiología dramática.

Los diferentes estudios que se han efectuado hacia este gran - problema enfocando la importancia capital en diferentes factores --

como son: la dieta, la hipertensión, la obesidad, el tabaquismo la agitación de la vida actual, etc. o en conjunto reduda siempre en que la patología es la arterioesclerosis de los vasos coronarios -- causadas por placas de "Lípidos" depositada en la íntima de ellos.

Siendo los lípidos causante de esta entidad generalmente el colesterol y sus ésteres, los triglicéridos y los fosfolípidos.

De ahí que este estudio está encaminado a las variaciones íntimas que tienen los lípidos en los problemas de infarto al miocardio; tienen como todos los estudios de este tema alcances químicos ya que el conocimiento de estos grupos son relativamente del problema íntimo y alcances epidemiológicos debido a lo extendido del padecimiento cuya terapéutica de prevención puede modificar hasta las costumbres alimenticias de una población.

En este trabajo se tomaron 62 casos de pacientes hospitalizados en un servicio de cardiología y diagnosticados tanto clínico como -- electrocardiográficamente como casos de Infarto al Miocardio en los cuales se determinaron niveles de lípidos totales y una de sus fracciones, los fosfolípidos. Utilizando el método de N. Zoller y K. -- Kirsch Z, para lípidos totales y Yong and Burk (Modificado) para -- fosfolípidos.

De estos casos (Hombres y Mujeres), 49 hombres y 13 mujeres; -- comprendidos entre 36 y 70 años; todos bajo control médico constante y tratados con medicamentos.

CAPITULO II

GENERALIDADES.

CAPITULO II

GENERALIDADES

Definición y Clasificación De Los Lípidos.

Es difícil presentar una definición general y útil de los lípidos ya que éstos constituyen un amplio aspecto de compuestos que difieren mucho en su estructura química, sin embargo pueden definirse; como sustancias orgánicas, insolubles en agua, compuestos de ácidos grasos, y solubles en los llamados solventes de grasas, tales como cloroformo, alcohol etílico, acetona, benceno y éter. - Esta definición desde luego no es perfecta, ya que algunos lípidos tienen una capacidad limitada para ser solubles en agua, mientras que ciertos lípidos fosforados son más o menos insolubles en acetona.

Los lípidos del suero pueden dividirse en forma general en — cuatro grandes categorías.

- a) Ácidos Grasos Libres.
- b) Triglicéridos.
- c) Colesterol.
- d) Fosfolípidos.

Los tres primeros pueden considerarse lípidos simples por no ser degradados mediante hidrólisis ó porque al degradarse, única—

carbono respectivamente.

El ácido graso no saturado más abundante del organismo es el oléico.

Síntesis y Catabolismo de ácidos grasos libres.

La principal función homeostática de la biosíntesis de Ácidos Grasos Libres en el humano es acumular, como grasa, la energía química derivada de la ingestión de carbohidratos, que exceden los requerimientos energéticos inmediatos.

Los Ácidos Grasos Libres se sintetizan a partir de fragmentos de 2 carbonos y de hidrógeno, que en su mayoría derivan de la glucosa proveniente de los carbohidratos de la dieta. La proteínas — también pueden convertirse en Ácidos Grasos Libres, pero en condiciones normales su aportación a la síntesis de grasas es mínima.

La conversión de glucosa a Ácidos Grasos Libres incluye una serie compleja de reacciones enzimáticas. Los fragmentos de 2 carbonos se forman a partir de glucosa por las enzimas del camino glucolítico del ciclo de Embden-Meyerhof. El paso final ocurre dentro de las mitocondrias, donde se forma acetilcoenzima A (acetil-coA) a partir de piruvato. (Fig. I).

El hombre no puede sintetizar fácilmente los ácidos grasos altamente insaturados, por lo que en la dieta requiere suministro de los ácidos linoléico, linolénico y araquidónico. Por fortuna, és—

tos abundan tanto en los alimentos naturales, que no son comunes. — las carencias de éstos ácidos. Unos cuantos de los ácidos grasos — más inusuales, en especial los del mismo sistema nervioso central contienen un grupo hidroxilo, por lo común en la posición adyacente al extremo de carboxilo de la cadena.

mente producen derivados de lípidos y/o glicerol. Los fosfolípidos son lípidos compuestos, ya que su hidrólisis produce derivados lípidicos, fósforo inorgánico, glicerol y en ocasiones un producto soluble en agua.

Bioquímica y Fisiología del Transporte de los Lípidos.

a) Ácidos Grasos.

Los ácidos grasos de los lípidos, son compuestos alifáticos de cadena única y terminada por un ácido carboxílico ($-\text{COOH}$).

Pueden ser saturados y tienen un número par de átomos de carbono, cuando se encuentran en esta forma se llaman "Ácidos Grasos Libres", sin embargo, la mayoría de los "ácidos grasos libres" del organismo se encuentran presentes en el suero y los tejidos, formando ésteres o amidas.

Esta fracción tiene en cuanto a su volumen, para significación una participación del 2 al 3% en los lípidos totales, lo cual significa una concentración plasmática media de 10 a 20 mg/100 ml. Los niveles normales de Ácidos Grasos Libres en el suero obtenido después de un ayuno de 12 horas varían de .3 a .6 mEq/l.

Metabólicamente, se trata de la fracción más activa, la capacidad de transporte es alrededor de 5 mEq/l cada 24 horas.

Los ácidos grasos saturados más abundantes del organismo son el palmítico y el esteárico los cuales contienen 16 y 18 átomos de

b) Triglicéridos.

Los triglicéridos que son ésteres de ácidos grasos con el tri hidroxialcohol-glicerol; con tres ácidos grasos, son compuestos en los cuales cada uno de los tres grupos alcohólicos del glicerol es tá esterificado con un ácido graso (Fig. II).

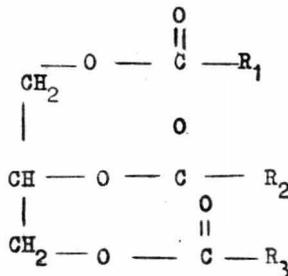


Fig. II

Donde el R_1, R_2, R_3 , representan las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos.

Son absorbidos de los alimentos en proporción de más de un gramo diario por kilogramo de peso corporal.

Un porcentaje de la masa de tejido se compone de triglicéridos mientras que una cantidad muy pequeña se encuentra en la forma de mono y diglicéridos.

Los triglicéridos sólidos se llaman grasas, los líquidos son aceites, la principal diferencia entre grasas y aceites es el contenido relativamente alto de insaturación.

Frecuentemente se ha comprobado que hay cantidades variables

de triglicéridos en los cinco tipos de hiperlipoproteinemias primarias clasificadas por el Dr. Donald S. Fredrickson.

Los investigadores aconsejan efectuar la determinación de triglicéridos al mismo tiempo que la de colesterol, cuando desean establecer la presencia de hiperlipoproteinemia.

Si ambos se hallan dentro de límites netamente normales, cabe excluir la hiperlipoproteinemia con un grado de precisión adecuada.

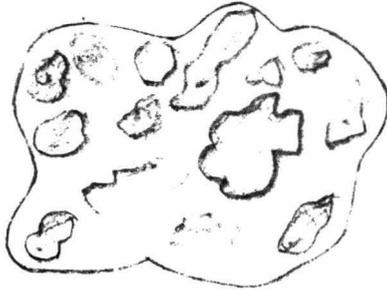
Los triglicéridos (grasa neutra) provienen de los alimentos, -- constituyen una fuente de energía y son almacenados en el tejido -- adiposo (Fig. III).

De estos depósitos se liberan ácidos grasos libres, llamados -- también ácidos grasos no esterificados (Agne) liberados y oxidados al ritmo requerido por las demandas energéticas del cuerpo.

El hígado puede sintetizar triglicéridos de fuentes como:

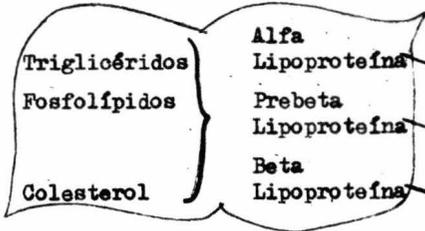
- 1.- Los Ácidos Grasos Libres que son transportados al Hígado y esterificados nuevamente en triglicéridos.
- 2.- A partir de precursores no lipídicos, como la glucosa. El hígado incorpora los triglicéridos en lipoproteínas que -- más tarde son liberadas hacia la sangre (Fig. III).

TEJIDO ADIPOSEO
(DEPOSITO GRASO)



Acidos Grasos Libres

Unidos a la
Albumina.

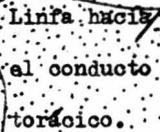


SANGRE

HIGADO



Quilomicrones.



INTESTINO.

Fig. III Representación Esquemática de los Orígenes de Lípidos del Plasma.

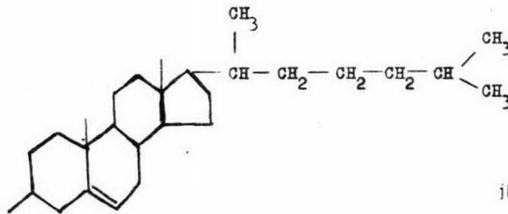
Valores Normales de Triglicéridos en Diferentes Edades.

Tabla 1. Concentraciones Normales de
Triglicéridos en Plasma.

Edad (años)	Triglicéridos (mg. por 100 ml.)
Cordón Umbilical	10 - 65
1 - 19	10 - 140
20 - 29	10 - 140
30 - 39	10 - 150
40 - 49	10 - 160
50 - 59	10 - 190

Modificada de Levy, Bonnell y Ernst.

c) Colesterol.



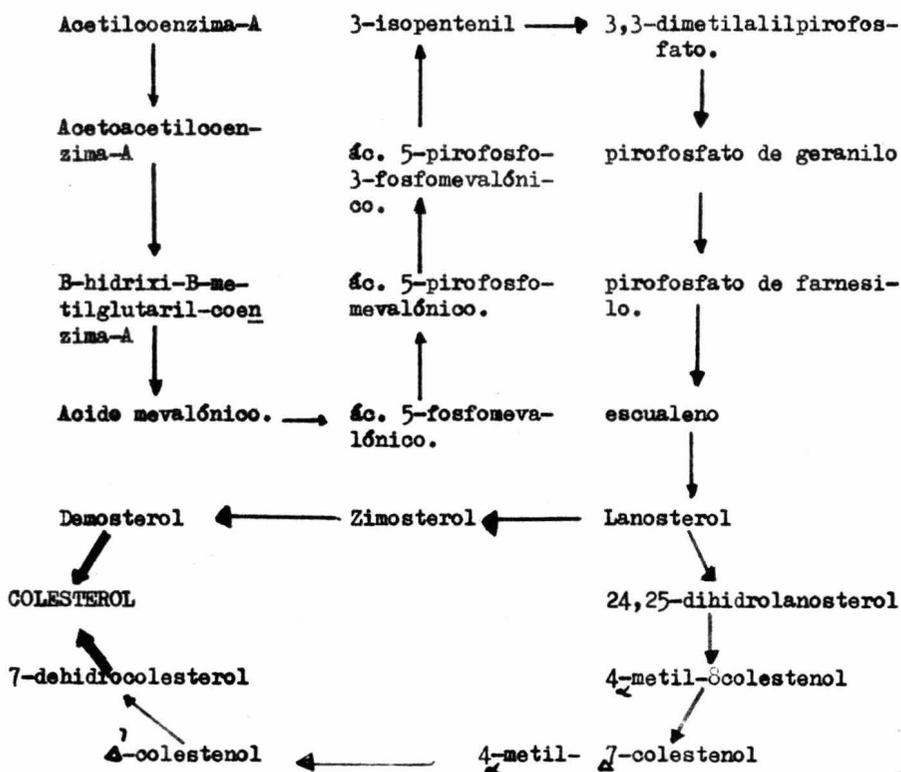
iFig. IV,

El Colesterol es un miembro de una abundante clase de compuestos biológicos llamados esteroides.

Estos son alcoholes cíclicos de alto peso molecular que se encuentran en todos los organismos vivos. Son derivados del núcleo - ciclopentano perhidrofenantreno o núcleo esteroide.

El interés por los lípidos se centró inicialmente en el Colesterol, los investigadores demostraron su presencia en la sangre, - en los tejidos, y reconocieron su importancia fisiológica bioquímica y diagnóstica. (Fig. V).

El Colesterol aunque no es un lípido, actúa como tal. De hecho, es el esteroide más abundante en el hombre, ingerido o biosintetizado; pasa a ser un componente estructural de lipoproteínas celulares, plasmáticas y es la fuente de ácidos biliares y hormonas esteroides. Se sintetiza en el hombre por un proceso que incluye más de 30 pasos, después que el acetato ha sido activado por una enzima hasta acetilcoenzima.



(Fig. V) Biosíntesis del Colesterol.

El hígado es el asiento principal de la biosíntesis de colesterol, otro lugar importante al respecto es el intestino.

El colesterol del suero probablemente no contribuye mucho, solo en parte a la formación de membranas celulares ricas en él pues la mayor parte de las células del cuerpo lo producen; su presencia en elementos celulares estructurales, glóbulos rojos y plasma explica la abundancia de colesterol, en la economía.

En el suero su concentración sólo es superada por la de los fosfolípidos.

Más de las $2/3$ partes del colesterol sérico se encuentra en la forma de ésteres de colesterol, solo $1/3$ parte como colesterol libre. Los ésteres de colesterol que penetran en la sangre después de consumir alimentos que lo contienen se transforman lentamente en colesterol libre por acción de enzimas denominadas colesteroles terasas. El hígado puede esterificarlo con Acido Graso Libre y puede considerarse como un regulador en los niveles séricos de ésteres de colesterol.

El colesterol que se ingiere, junto con el colesterol eliminado hacia el intestino con la bilis, es transportado al plasma sanguíneo por la linfa entérica, llega a la circulación por el conducto torácico. El colesterol sintetizado en el hígado puede quedar incluido en la molécula de lipoproteína y luego entrar directamen-

te en la sangre.

El principal lugar de producción de colesterol es el hígado. Las sales biliares (derivados del colesterol), y el colesterol es convertido en hormonas esteroideas por las suprarrenales y las góndas.

Parte del colesterol es reabsorbido y parte se elimina con — las heces en forma de esteroides neutros.

La síntesis de colesterol en promedio es del orden de 1000 a 1500 mg. al día. Su ingreso en la dieta es \pm .1 gm. al día, la mitad aproximadamente se absorbe, la otra mitad es eliminada.

La esterificación es una función del radical OH de la molécula de colesterol.

Se considera normal un nivel hasta de 275 mg/% de colesterol total, según el tipo de alimentación varían los valores normales, como en el caso de los Europeos, que ingieren mayor cantidad de — grasas en su dieta.

Valores Normales de Colesterol en Diferentes Edades.

Tabla 2. Concentraciones Normales de

Colesterol en Plasma.

Edad (años)	Colesterol Total (mg. por 100 ml.)
Cordón Umbilical	50 - 95
1 - 19	120 - 200
20 - 29	120 - 240
30 - 39	140 - 270
40 - 49	150 - 310
50 - 59	160 - 330

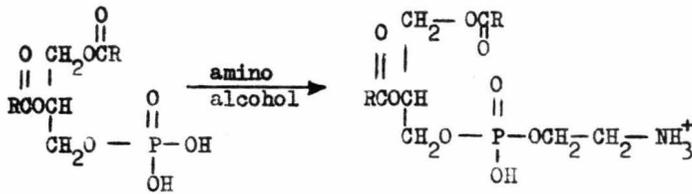
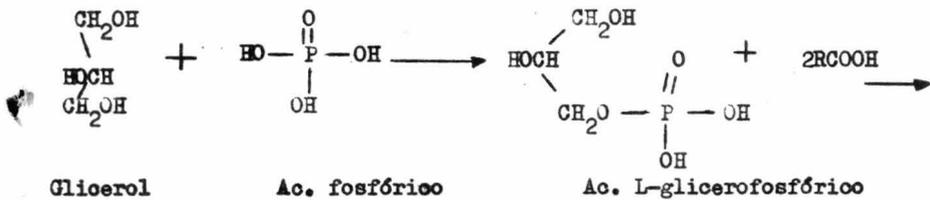
Modificada de Levy, Bonnell y Ernst.

d) Fosfolípidos o Fosfátidos.

Glicerosfosfátidos.

Son los miembros más simples de los lípidos Complejos llamados así porque contienen átomos de P y N o S además de C, H y O. Los glicerosfosfátidos y los esfingofosfátidos, que se examinarán más adelante, (Fig. VI) fueron descritos de manera general en el pasado como "Fosfolípidos" pero fuera de la indicación del contenido de fósforo, el término fosfolípido aporta muy poca información estruc

tural. Por esta razón, usaremos aquí los términos más precisos gli
cerofosfátidos y esfingofosfátidos para describir las clases res-
pectivas. Los glicerofosfátidos pueden considerarse como derivados
de ácido fosfatídico.

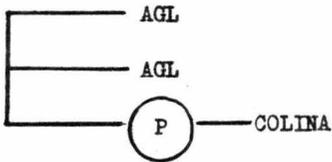


Acido L-fosfatídico
Fig. VI

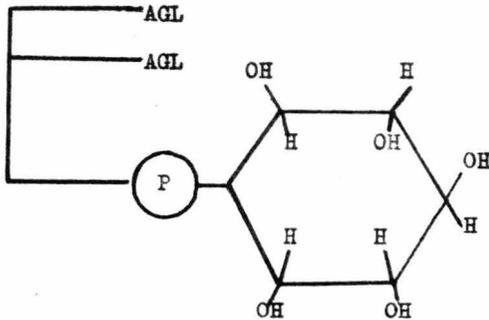
L-Glicerofosfátido

Los fosfolípidos o fosfátidos, se encuentran en todas las célu
las animales y vegetales. Se componen de un alcohol, AC grasos, AC
fosfórico y otro compuesto que pueden ser colina, etanolamina, se
rina o inositol. Las lecitinas son ésteres de glicerol, dos ácidos
grasos, ácido fosfórico y colina por ejem. fosfatidilcolina. Las -
cefalinas son compuestos semejantes, pero en vez de colina contie-
nen etanolamina o serina, por ejem. fosfatidiletanolamina, fosfati
dilserina. Otros fosfátidos relacionados con las lecitinas y las -

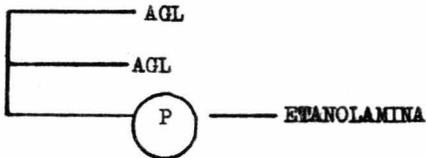
cefalinas son los derivados del fosfatidil-inositol. Las esfingomielinas contienen esfingosinol (alcohol aminado) en lugar de glicerol.



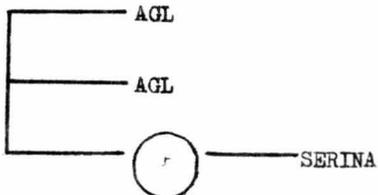
FOSFATIDILCOLINA O LECITINA.



FOSFATIDILINOSITOL.

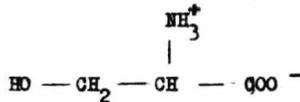


FOSFATIDILETANOLAMINA.



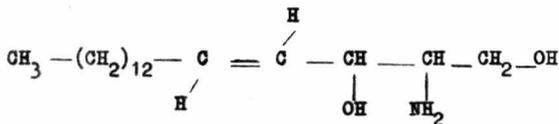
FOSFATIDILSERINA.

El ácido fosfatídico se convierte en un glicerofosfátido por adición de un miembro de una gran variedad de aminoalcoholes, de los cuales los tres más importantes son colina, etanolamina y serina, aunque este último compuesto no sólo es un aminoalcohol sino - también aminoácido



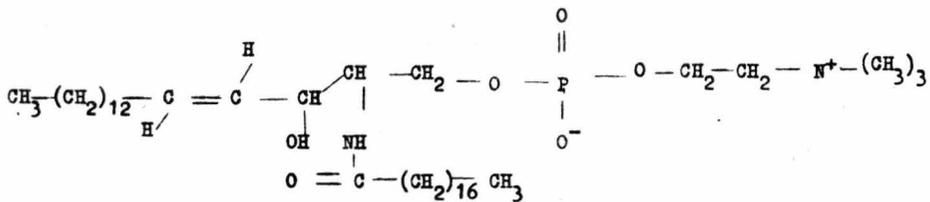
Esfingofosfátidos.

Fig. VII Los miembros de este grupo de fosfátidos se conocen también - como esfingomielinas. Estos lípidos contienen, en vez de glicerol, el aminoalcohol esfingosina.



Esfingosina

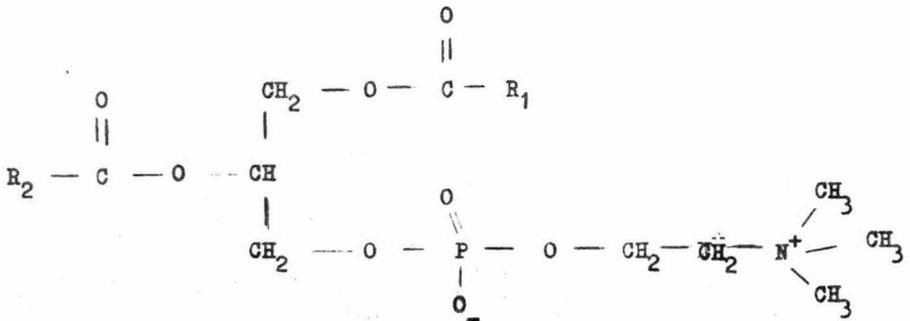
Fig. VIII



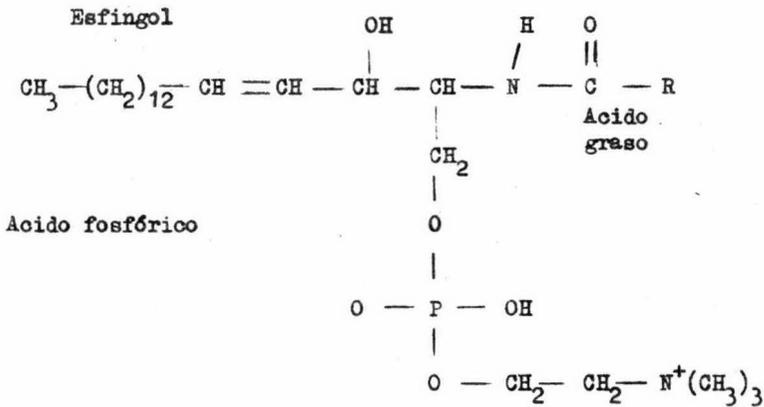
Esfingomiclina

Más abundante que el colesterol, a los fosfolípidos les corresponden más de 50 % de los lípidos inmediatamente de la absorción.

Todos los fosfátidos se encuentran en grandes cantidades en el tejido nervioso, existen en las células, estas sintetizan fosfolípidos, pero el hígado lo produce más que cualquier otro tejido y proporciona la mayor parte en sangre (Fig. III). Hay muchas clases de fosfátidos pero en sangre el 70 % más o menos son fosfatidilcolina (lecitina).



y el otro 20% es esfingomielina.



estos contienen esfingosinol en lugar de glicerol.

Los fosfátidos son constituyentes importantes en las vainas de mielina en los nervios; Constituyen una fuente de energía o sea, contienen con frecuencia ácido fosfórico útil en las síntesis celulares. Las cefalinas, son factores esenciales en la coagulación de la sangre; la permeabilidad celular y la absorción de grasa de un tejido a otro; sin embargo no se conoce bien el significado de los fosfolípidos en el propio plasma a pesar de que constituyen componentes mayores de las lipoproteínas plasmáticas.

Algunos investigadores consideran que el papel principal de los fosfolípidos en el plasma consiste en servir como "detergentes biológicos" que ayudan a estabilizar lípidos, menos polares como colesterol y triglicéridos, en medios acuosos.

El hígado parece tener importancia en el metabolismo de los fosfolípidos de la sangre al desintegrarlos en bióxido de carbono y agua. (Fig.IX). Se consideran como valores normales en suero de 150 - 300 mg/100 ml.

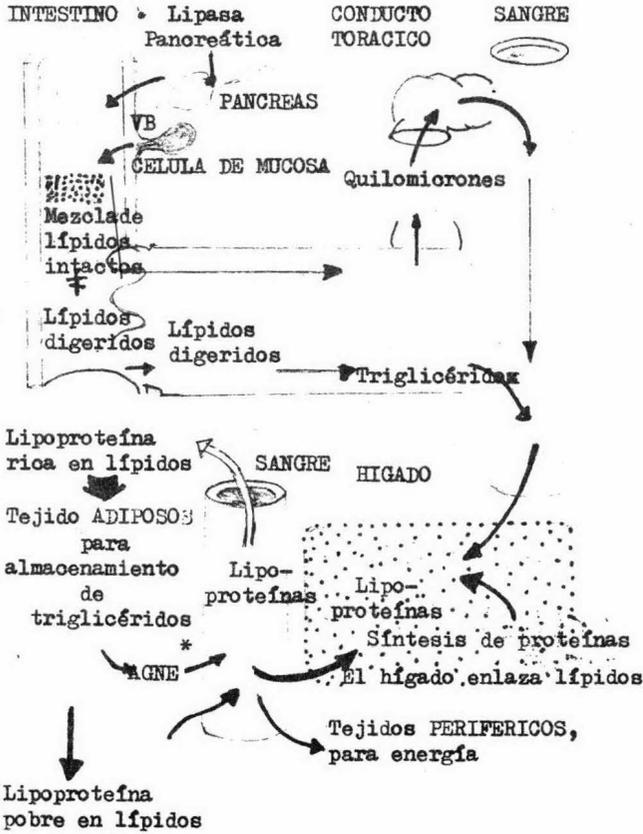
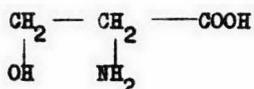


Fig. IX Factores que intervienen en el transporte de lípidos en el cuerpo.

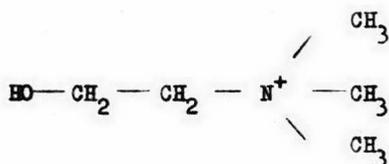
Conceptos Básicos del Metabolismo de Lípidos.

Al tratar del metabolismo de lípidos han de considerarse el destino de los lípidos preformados y la conversión y almacenamiento de la energía ingerida en exceso.

Las enzimas digestivas son normalmente capaces de reducir los lípidos ingeridos a sus partes componentes fundamentales, glicerol ácidos grasos, fosfatos inorgánicos y bases nitrogenadas libres, como colina, etanolamina y serina.



Serina



Colina



Etanolamina

Los triglicéridos son convertidos a monoglicéridos, los cuales son absorbidos en esta misma forma. Un monoglicérido es un éster de glicerol con un solo mol de ácido graso. Este proceso de digestión

hidrolítica que tiene lugar en el lumen del intestino delgado, se ve ayudado considerablemente por las propiedades emulsificantes de las sales biliares que son a su vez derivados de colesterol.

Ácidos Grasos. En las condiciones fisiológicas del intestino delgado, los ácidos grasos liberados existen como jabones, y como complejos micelares, en presencia de sales biliares. En esta forma son absorbidos por la mucosa intestinal, junto con los otros productos de la digestión, incluidos glicerol y pequeñas cantidades de mono y diglicéridos que escaparon a la hidrólisis completa. Dentro de las células de la mucosa, los ácidos grasos se vuelven a combinar para formar triglicéridos y glicerofosfátidos. Probablemente ocurre lo mismo con los mono y diglicéridos. Sin embargo, es importante observar que el glicerol utilizado en la nueva síntesis de lípidos no es el recién absorbido del intestino; el glicerol se convierte en glucosa y otros productos. Las enzimas que catalizan la formación de triglicéridos solo pueden transferir ácidos grasos libres a ácido glicerofosfórico, no a glicerol libre. La nueva síntesis de grasas es un proceso que requiere energía. Estudios cuidadosos han demostrado que el adulto humano puede absorber hasta — 150 grs. de grasa por día y que las grasas líquidas son absorbidas con mayor rapidez que las grasas sólidas.

Lo que ocurre exactamente a los lípidos formados en la mucosa intestinal o absorbidos por ella sigue siendo objeto de discusión entre los expertos. Gotitas de grasa son expedidas de las células de la mucosa y transferidas a los vasos linfáticos como quilomicrones, cuyo tamaño varía de 35 mm. a 1 um., que llegan por último a la sangre por la vía del conducto linfático torácico y de allí llegan al hígado. Se asegura que los quilomicrones son simplemente gotitas de grasa revestidas de proteínas lo cual impide su coalescencia y que, en general, no contienen ácidos grasos de cadena más corta (C_4 a C_{12}). Estas cadenas más cortas pueden llegar al hígado por transporte directo en la sangre portal, en parte como ácidos grasos no esterificados unidos a albúmina y en parte como mono o diglicéridos. Está bien establecido que el recuento de quilomicrones de sangre y linfa asciende después de ingestión de grasas.

Una pequeña cantidad de la sangre que llega al hígado es probablemente quemada por este órgano para obtener energía, pero el hígado no puede soportar largo tiempo la carga de almacenar la ingestión total sin degeneración (hígado graso). Para evitar esto, el hígado enlaza gran parte de los lípidos para formar lipoproteínas α y β , los cuales sirven como agentes de transporte a la masa total repartida de tejido adiposo.

El transporte por lipoproteínas está también disponible no so-

lo para transportar lípidos preformados sino también lípidos que se forman a partir de carbohidratos y proteínas en exceso en la dieta. El hígado convierte estas formas de energía en triglicéridos y otros lípidos y luego los maneja sin distinción de los preformados en los alimentos que ingerimos. Estos hechos se resumen en la figura.IX.

vehículo del Transporte de Lípidos.

Las cuatro principales variedades de lípidos transportados — en el plasma son: colesterol y sus ésteres, triglicéridos y ácidos grasos. Debido a que los lípidos son sumamente insolubles en soluciones acuosas como el plasma, son transportados en combinación — con proteínas. Los triglicéridos, colesterol y fosfolípidos son — componentes de todas las lipoproteínas. Sin embargo, cada lipoproteína contiene diferentes cantidades de estos lípidos así como un tipo particular de proteínas.

Las cantidades variables de lípidos y proteínas en las lipoproteínas hacen su densidad y carga eléctrica distinta. Esto nos permite separar y clasificarla ya sea por la rapidez de flotación en la ultracentrífuga o bien por sus movimientos durante la electroforesis (Fig. X)

Basados en estos métodos de separación, se han clasificado los complejos de lípidos de la siguiente forma:

1. Quilomicrones
2. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) o pre-beta lipoproteínas
3. Lipoproteínas de baja densidad (LDL) o beta lipoproteínas.
4. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) o alfa lipoproteínas.

Electroforesis de Proteinas

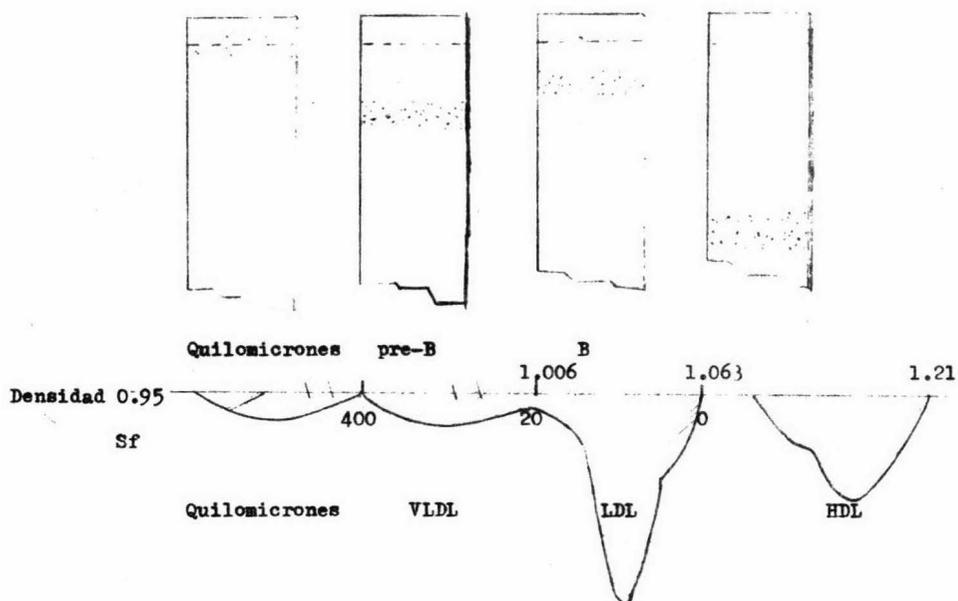


Fig. X Usando electroforesis, diferentes cargas eléctricas hacen que los complejos de proteínas emigren a través de las tiras de papel a diferentes velocidades formando bandas distintas, con separación de lipoproteínas en α , B, pre-B y bandas de quilomicrones. Esto se correlaciona con la separación de la centrifuga en-HDL, LDL, VLDL y lipoproteínas quilomicrones.

Quilomicrones. Las lipoproteínas más grandes y menos densas se llaman quilomicrones y están hechas principalmente de triglicéridos (80-95%), pero también contienen pequeñas cantidades de fosfolípidos, colesterol y proteínas. Sintetizados en el intestino, los quilomicrones transportan triglicéridos que se han derivado de la ingesta alimenticia (triglicéridos exógenos), del intestino van al plasma y terminan en los tejidos para su almacenamiento o utilización. Son partículas grandes y refractan la luz produciendo turbidez, lo que hace muy fácil detectarlas en un tubo de ensayo conteniendo plasma.

Más aún cuando el plasma se refrigera durante toda la noche y después se centrifuga, los quilomicrones muy ligeros flotan en la parte superior del tubo formando una capa cremosa. Si esto ocurre después de que el paciente ha ayunado por 12 a 16 horas, entonces sabemos con certeza que estamos frente de un trastorno que involucra la acumulación de quilomicrones.

VLDL, o pre-beta lipoproteínas, los siguientes en tamaño de este complejo son las VLDL, también se dice que tienen triglicéridos como principal componente. Sin embargo, a diferencia de los quilomicrones el contenido de los triglicéridos de VLDL (alrededor de 60 a 80% de la molécula) se deriva principalmente del hígado (endógeno).

Igual que con los quilomicrones, los altos niveles de VLDL — producirán un plasma turbio. Pero ya que esta lipoproteína es de alguna manera más pesada, no flotará en la superficie del tubo con teniendo plasma refrigerado. A diferencia de esto, la turbidez se esparce a través del tubo. Obviamente, cuando se visualiza el plasma para la turbidez es relativamente fácil identificar los tratamientos de lípidos que involucran quilomicrones y acumulación de VLDL.

LDL, o beta lipoproteínas, el tercer miembro de los complejos de lípidos, consiste principalmente de colesterol, y de hecho lleva de 50 a 60% del colesterol total del plasma. Por peso los LDL — es aproximadamente el 25% proteína y 45% colesterol. Como ellas — son más pesadas que los quilomicrones y las VLDL, estos complejos no producen un plasma turbio, aun cuando sus concentraciones se encuentran mucho muy elevadas. La mayoría del colesterol que se encuentra en los vasos sanguíneos fue originalmente un componente de LDL. Aparentemente el tamaño particular y las propiedades físico— químicas de estas lipoproteínas hacen que su entrada a los vasos — sanguíneos sea más fácil que su salida; atrapadas en los vasos, las LDL se desintegran pero dejan sus desechos difíciles de metabolizar ésteres del colesterol.

HDL, las cuartas lipoproteínas en tamaño llevan muy poco triglicérido, pero tienen cantidades apreciables de proteínas y coles

terol. Es la única lipoproteína que no ha sido asociada con la hiperlipidemia.

Por otro lado, las concentraciones de HDL se encuentran notablemente afectadas por estrógenos y pueden causar altos niveles de colesterol. Esto es por lo que siempre consideramos a las HDL, así como a las LDL cuando se acumulan para evaluar la hipercolesterolemia en las mujeres. Al examinar la composición porcentual de lipoproteínas (Fig.XI), nosotros podemos fácilmente ver ya que estas fracciones de lipoproteínas contienen colesterol, un aumento cualquiera que pueda causar hipercolesterolemia y diagnosticar el trastorno si pensamos solamente en términos de colesterol y niveles de triglicéridos.

Aparte de las propiedades detergentes que permiten el transporte de los lípidos insolubles en una forma soluble, el contenido de proteínas de las lipoproteínas también parece estar involucrado en una distribución y clarificación de lípidos. Aunque nosotros no sabemos el número exacto de estas proteínas (apoproteínas), aquellas que se han identificado son conocidas como: apoproteínas A, B y C.

Aunque todas las células corporales pueden producir colesterol y fosfolípidos, sólo el hígado y el intestino pueden liberar triglicéridos, el complejo energético que contiene ésteres de glicerol y ácidos grasos libres. Ya que el colesterol y los fosfolípi

Porcentaje Aproximado De La Composicion De Lipoproteinas.

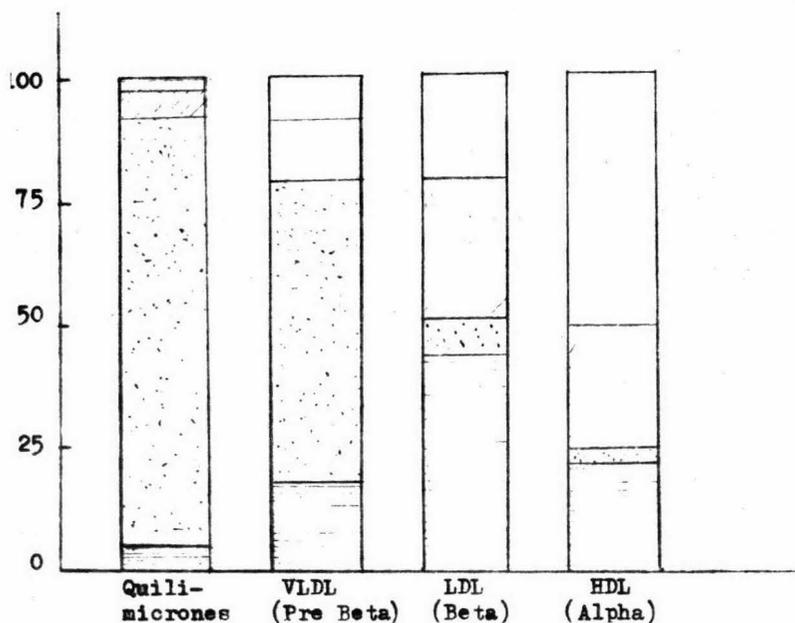


Fig. XI La composición de cada lipoproteína difiere marcadamente de las demás; las estructuras de quilomicrones por ejemplo, contiene casi 90% de triglicéridos. Las HDL menos de 5%. Las elevaciones en niveles específicos de lipoproteínas son por lo tanto de igual significado para el diagnóstico de los cambios de colesterol como para los cambios de niveles de triglicéridos.

-  Proteinas.
-  Fosfolípidos.
-  Trigliceridos.
-  Colesterol.

dos no son lípidos que contengan energía, la pregunta inevitable - que se presenta será: "¿Qué están haciendo en la circulación?"

Nosotros podemos pensar que de alguna manera ayudan a los triglicéridos y su unión con la proteína para formar la lipoproteína. Los fosfolípidos, por ejemplo —debido a que tienen tantas propiedades hidrofílicas como hidrofóbicas— pueden actuar como estabilizantes para lípidos menos polares. Debido a que no parecen tener ningún otro propósito en el plasma, nosotros visualizamos el colesterol, los fosfolípidos y el contenido de proteínas de las lipoproteínas como vehículos transportadores liberadores de energía. En una dieta normal, de 70 a 150 gramos de triglicéridos son absorbidos del intestino y dejan el torrente sanguíneo diariamente. 20 a 60 gramos adicionales entran cada día a través del hígado.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS.

CAPITULO III

METODOS DE ANALISIS.

LIPIDOS TOTALES.

El material biológico para las determinaciones, fué obtenido de enfermos con infarto al miocardio, comprobado por el electrocardiograma y por las determinaciones enzimáticas. El trabajo fué hecho para establecer las variaciones de los lípidos totales y fosfolípidos en este padecimiento.

Material Biológico: suero

Fundamento: N.Zollner y K.Kirsch, Z.

El suero, sin desproteinizar previamente se calienta con ácido sulfurico concentrado, y seguidamente se trata con reactivo de ácido fosforicovainillina, mediante ésta reacción sulfofosfórica—vainillina, los lípidos del suero producen un color rosa que se determina por fotometría según H. Zollner y Kirsch. El contenido total en grasa del suero se evalúa comparando con una solución patrón ajustada.

Aparatos:

Fotómetro espectral o del filtro.

Material:

a) pipetas de .05 ml.

- b) pipetas de 0.1 ml.
- c) pipetas de 2 ml.
- d) tubos de ensaye de 13 X 100 mm.
- e) baño de agua a 95° C

Reactivos:

Reactivo de color (ácido fosfóricovainillina) ácido fosfórico 11.9 m. y vainillina 0.008 m.

Solución patrón conteniendo 1000 mg/% de lípidos.

Acido sulfurico 95-97 % de concentración (aprox. 1.84) para análisis.

Nota: Tanto el reactivo de color como el patrón son de uso inmediato.

TECNICA:

En tres tubos de ensayo de 13 X 100 debidamente marcados- medir:

	Problema	Patrón	Blanco
Suero	0.05 ml.	-	-
Solución Patrón	-	0.05 ml.	-
Acido sulfurico 95-97 %	2.0 ml.	2.0 ml.	-

Mezclar bien y tapar, calentar 10' en agua hirviente, - enfriar 5' en agua fría. De ésta mezcla reactiva poner con pipeta en tubos de ensaye limpio.

	Problema	Patrón	Blanco
Mezcla reactiva	0.1 ml.	0.1 ml.	-
Acido sulfurico	-	-	1 ml.
Reactivo de color	2 ml.	2 ml.	2 ml.

Mezclar y esperar unos 40 ó 50 min., comparar la extinción del patrón y el problema, ajustando el cero con el blanco.

Extinción máxima 530 nm

CALCULOS:

Contenido total en lípidos $\rightarrow \frac{E_a \times 1000}{E_s}$

E_a = Extinción del análisis (problema)

E_s = Extinción del patrón.

1000 = Concentración del patrón.

Valores Normales de 6000-1000 mg./100 ml.

POSFOLIPIDOS

Material Biológico: Suero

Fundamento: Yong and Burk (Modificado).

Los fosfolípidos son extraídos del suero por una mezcla de alcohol-éter. En el extracto, la materia orgánica es destruída por medio de ácido sulfurico y peróxido de hidrógeno. Adicionamos agua y exponemos a calentamiento para transformar el fósforo a fosfato soluble. En la digestión se hace una reducción por medio del molibdato de amonio que forma un complejo, con un desarrollador de color como el ácido amino-naftol-sulfónico, se produce un color azul que se determina por fotometría según Yong and Burk. El contenido total de fosfolípidos del suero se evalúa comparando con una solución patrón ajustada.

Para el cálculo de la concentración de fosfolípidos se multiplica el fósforo lipídico por el factor de 25, basado en el contenido medio en fósforo de la mezcla de fosfátidos de un 4 %.

Aparatos:

Fotómetro Espectral o de Filtro.

Baño de agua.

Centrífuga.

Parrilla Eléctrica.

Material:

- a) Tubos graduados con tapón esmerilado (20ml.).
- b) Pipetas de 1 ml., 5 ml. y 20 ml.
- c) Papel filtro # 42 whatman.
- d) Matraces Erlenmeyer.
- e) Embudos de cola corta.

Reactivos:

- 1.- Alcohol-éter (3:1).
- 2.- Suero Patrón Monitrol I conteniendo 210 mg. de lípidos fosfatídicos.
- 3.- Acido sulfúrico 5 N.
- 4.- Peróxido de hidrógeno de 30 vol.
- 5.- Molibdato de Amonio al 2.5 % en solución: 2.5 ml. de molibdato de amonio más 75 ml. de H₂O destilada.
- 6.- Acido aminonaftolsulfónico al 0.25 % : Se mezcla 14.25 gm. de bisulfito de sodio más 0.25 ml. de aminonaftolsulfónico.
- 7.- Solución patrón de fósforo inorgánico (1 mg/1 ml.).
Se pesan 439.4 de KH₂PO₄ seco y se disuelven en can-

tidades suficiente de H_2O destilada para obtener un volumen final de 100 ml., esta solución patrón tiene de concentración 1 mg. de P/ml.

A partir de la solución patrón se prepara el estándar - de trabajo. Diluyendo .4 ml. en 100 ml. de H_2O destilada, con teniendo .004 mg de fósforo/ml.

Técnicas:

- 1.- Colocar en un tubo de 50 ml. graduado, 18 ml. de - alcohol-éter (3:1).
- 2.- Agregar gota a gota y agitando 1.0 ml. de suero.
- 3.- Calentar en baño de $50^{\circ}C$ por lo menos 5 min. enfriar y aforar a 20 ml. con alcohol-éter.
- 4.- Filtrar y centrifugar.
- 5.- Del filtrado tomar 8 ml., colocarlo en un matraz y - llevarlo a sequedad en baño de $50^{\circ}C$ ó con parrilla - cuidando que no se quemé.
- 6.- Al residuo agregar 2.5 ml. de H_2SO_4 5 N.
- 7.- Ponerlo a digerir en parrilla, al iniciarse la hidrólisis agregar H_2O_2 al 30 % 0.2 ml. hasta aparición de humos blancos, volver agregar 0.2 ml. hasta aparición y desaparición de humos blancos.

- 8.- Ya incoloro el producto (cerciorese que así sea, ya que al enfriarse puede estar turbio). Repetir en todo caso el paso anterior.
- 9.- Agregar 4 ml. de agua destilada y calentar a ebullición (con el fin de transformar el fósforo a fosfato soluble). Volver agregar 4 ml. de H₂O destilada calentar hasta casi evaporación total.
- 10.- Enfriar y agregar 15 ml. de H₂O destilada y pasar a a matraz erlemeyer de 25 ml.. Agregar 2.5 ml. de molibdato de amonio y 1.0 ml. de ácido amino-naftol-sulfónico.
- 11.- Llevar a 25 ml. con agua destilada, mezclar y reposar por 5 min. a temperatura ambiente leer a 640 de longitud de onda.
- 12.- Tratar el blanco y el monitrol igual que el problema.
- 13.- La solución patron de fósforo que contiene .004 mg/ml. medir en un matraz erlemeyer 8 ml., agregar 7 ml. de H₂O y tratar igual que el problema y el monitrol a partir del paso # 10.

$$\text{Sol. patron de fósforo } \frac{\text{D.O.}_x \times 8 \times 25}{\text{D.O.}_p} = \text{mg/\% de fosfolípidos}$$

$$\text{Monitrol mg/\% de fosfolípidos } = \frac{\text{D.O.}_x}{\text{D.O.}_p} \times 210$$

Valores Normales en este método: 150-300 mg/100 ml.

CAPITULO IV

RESULTADOS.

PARTE EXPERIMENTAL

Utilizando los métodos descritos anteriormente se procedió a utilizarlos en un grupo central de personas clinicamente sanas, efectuando en ellas 30 determinaciones con el fin de comparar los resultados con los reportados en las diferentes publicaciones consultadas (Carlson, L.S.: Serum lipids in normal men. Acta med. scand. 165 (1960), 377. Chabrol, B., M. Böszörményi: Les lipides du serum sanguin sous l'angle de la réaction sulfo-phospho-vanillique. Sem. Hôp. Paris (1949), - 3446.; encontrándose que las 30 determinaciones tenían cifras entre 600-1000 mg/% de lípidos totales en suero y entre 150-300 mg/% de fosfolípidos o sea valores normales, dados por los autores de las técnicas empleadas. Para llevar a cabo las lecturas de los resultados se utilizó un fotocolorímetro utilizando una longitud de onda de 530 nm para lípidos totales, y 640 nm de extinción máxima, sobre la escala de densidad óptica.

Como grupo problema y sobre el cual se efectuó el estudio base de este trabajo; se tomaron 62 pacientes que clínicamente y electrocardiográficamente habían padecido un infarto al miocardio y cuya evolución tenía de 24 horas a 8 días como máximo, a los cuales se les determinó niveles de lípidos totales y fosfolípidos en suero.

Los resultados se exponen en las tablas 3 y 4 las cuales se han ordenado progresivamente de acuerdo con los lípidos totales encontrados. La 1.ª columna solo indica un orden progresivo, en tanto que la última se refiere a la cifra de fosfolípidos encontrados para los mismos pacientes.

Valores de Lípidos Totales y Fosfolípidos		
Problema	Lípidos Totales mg/100	Fosfolípidos mg/100
1	675	217
2	736	275
3	755	270
4	804	312
5	806	165
6	815	186
7	818	225
8	818	186
9	836	207
10	840	207
11	845	207
12	854	220
13	866	218

14	866	285
15	884	235
16	886	187
17	893	312
18	893	275
19	898	280
20	898	265
21	918	200
22	918	203
23	924	297
24	936	225
25	939	202
26	939	217
27	948	280
28	957	256
29	957	227
30	966	275
31	966	207
32	975	286
33	978	300
34	978	225
35	987	225

36	987	225
37	987	225
38	989	175
39	990	300
40	996	235
41	996	305
42	1000	102

Hasta este problema estan dentro de los valores normales, en -
la siguiente tabla aparecen los resultados arriba de lo normal.

Tabla 4

Valores de Lípidos Totales y Fosfolípidos

Problema	Lípidos Totales mg/%	Fosfolípidos mg/%
43	1030	207
44	1036	275
45	1048	112
46	1060	217
47	1060	250
48	1089	207
49	1093	300
50	1151	297

51	1151	287
52	1160	300
53	1187	300
54	1200	225
55	1200	305
56	1212	295
57	1242	282
58	1316	232
59	1333	245
60	1395	225
61	1909	315
62	2484	325

Análisis de los Resultados.

Lípidos Totales

- a) El promedio de lípidos totales elevados fue de 20 (32%) así como la cifra máxima determinada de 2484 mg%.
- b) Correspondiendo a 42 personas restantes del total del estudio el 67% de los casos normales según nuestros métodos.
- c) Referente al estudio de los fosfolípidos se encontraron cifras normales en 52 personas de este grupo con un porcentaje de - 92 %, el 8 % restante (5 personas) presentaron cifras mayores de 300 mg% con cifra máxima de 325 mg%.

d) Por el análisis de los resultados podemos valorar - que los lípidos totales del grupo de 62 personas con infarto al miocardio, 20 de ellas o sea el 32% presentan cifras arriba de los normales, de los cuales 3 casos tenían tanto cifras elevadas de lípidos totales como de fosfolípidos, por lo que se concluye que en el promedio y porcentaje antes apuntados, la elevación o al menos tendencia a la elevación, acompaña a este grupo de pacientes.

e) En el caso de los fosfolípidos hay 5 casos (8 %) en contradas con cifras altas y hubo otros 5 casos más cuyos re sultados fueron exactamente de 300 mg/%, o sea la cifra lími te superior, que para enfoques clínicos se pueden practicamen te considerar altos. Además ninguna determinación de fosfolípidos de este grupo de enfermos presentó valores inferiores a los límites normales mínimos. Estos resultados son contras tantes con los obtenidos en el grupo de personas clínicamente sanas de las cuales 8 o sea un 26 % se encontraron por ab ajo de los datos dados como normales por éste método.

CAPITULO V

RESUMEN Y CONCLUSIONES

RESUMEN

Tratamos brevemente la introducción al tema, y el plan a seguir, lo que hizo en este trabajo y lo que se esperaba - obtener. En el capítulo II se citan las generalidades de los lípidos y sus fracciones, ácidos grasos libres, ácidos grasos esterificados, colesterol, triglicéridos y fosfolípidos.

Se describen los métodos para la determinación cuantitativa de los lípidos totales de N. Zollner y Kirsch. y la de los fosfolípidos, como fósforo, por el método de Yong and Burk.

Empleamos en este estudio 62 pacientes con Infarto al Miocardio y cuyos resultados se observan en las tablas 3 y 4 en donde hacemos un análisis de los resultados de lípidos totales tanto los alterados como los normales. En el caso de los fosfolípidos también se hace un análisis y se sacan conclusiones de los datos obtenidos.

Por las variaciones encontradas en los resultados de lípidos y fosfolípidos séricos en el estudio realizado podemos pensar que estos parámetros no son suficientes ni definitivos para evaluar un infarto al miocardio.

En el capítulo IV presentamos unas conclusiones breves

donde damos nuestros puntos de vista de acuerdo a los resulta
dos obtenidos en este trabajo.

Aquí en este capítulo V presentamos un pequeño resumen
de los hechos encontrados en este trabajo.

CONCLUSIONES

1.- De 30 casos clínicamente sanos estudiados, todos - todos dieron resultados de lípidos totales y de fosfolípidos dentro de los límites dados como normales por los autores, - por lo que dichos límites los consideramos como correctos.

2.- De los 62 pacientes estudiados 20 casos, mostraron una elevación importante de los lípidos totales, de acuerdo a los valores normales adoptados por nosotros, de la técnica de N.Zellner y Kirsch; basadas en trabajos hechos, previos a éste en personas clínicamente sanas.

3.- En relación a la concentración de fosfolípidos en plasma, en casos de infarto al miocardio encontramos en 5 - casos (9%) un ligero aumento de fosfolípidos, otros 5 (9%) - estuvieron en el límite máximo de valores dentro de la normalidad (225-275 mg/%).

4.- Habiendo una elevación frecuente de lípidos totales en los enfermos con infarto al miocardio, en ningún caso se - encontraron cifras inferiores a los valores normales; tampoco en el caso de los fosfolípidos.

5.- Aunque se encontró elevación frecuente de lípidos - totales y escasa de fosfolípidos en los pacientes estudiados

no podemos decir que, estas determinaciones tengan valor dia
gnostico ni pronóstico en el infarto al miocardio, y futuras
y más profundos estudios sobre este punto indicaran si real-
mente pueden establecerse alguna relación entre estas deter-
minaciones y el desarrollo o la evolución del trastorno cita
do.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Phospholipids of the orta, coronaries and renal arteries in myocardial infarct.
Zhivoderou VM, et al.
Kardiologija 11: 123-6 Jun. 1971.
(Eng-Abstr) (Rus).
- 2.- Changes in lipid metabolism in the immediate post-infarction period..
Borkeuk T. V.
Ter. Arkh 44:27-30 Apr. 1972 (Eng-Abstr) (Rus).
- 3.- Behavior of lipid fractions in the acute-phase of myocardial infarct.
Sustuvich Dr., et al.
Rev. Ass. Med. Brasil 11:184-92 (Por).
- 4.- Some aspects of phospholipid metabolism in the red cell.
Meleod ME, et al.
Biochem Biophys Acta 144:391-6 (200 ct 1967).
- 5.- The plasma lipids and their fatty acid pattern in myocardial infarction.
Bang HO, et al.
Acta. Med. Scand.
184: 241-6 Oct. 1968.
- 6.- Acute myocardial infarct and plasma phospholipid levels.
Berlin E. et al.
Acta Med. Scand.
185: 439-442 (May 1969).
- 7.- A study of myocardial infarction. | Procedures of important laboratory investigations.

Lal H. B. et al.

Indian J. Med.

56: Suppl: 1137-1138 (Jul. 1968).

8.- Lípidos sericos en la Clínica.

Dr. E. Zorrilla H. et Dr. A. Hernández M.

Instituto Nacional de Cardiología.

Editorial Interamericana, S.A. de C.V.

México (1973).

9.- Serum lipids in male patients hospitalized for myocardial infarction.

Hellström R.

Acta Med. Scand.

182: 727-736 Dec. 1967.

10.- Studies on pre-beta lipoprotein fraction.

Dahlem G. et al.

Acta. Med. Scand. (Suppl) 531: 1-29, 1972 .

11.- Serum lipids and lipoprotein following acute myocardial infarction in women.

Birch Mood B.

Nutr. Metb. 14:38-47 (1972) Nutrition and Metabolism.

12.- Plasma lipids and lipoproteins in patients with myocardial infarction and in a control material.

Dyerberg L. et al.

Acta Med. Scand. 187:353-63 (May 1970).

13.- Plasma lipid changes after myocardial infarction.

Tyfe T. et al.

Lancet 2:997-1001 Nov. 1971.

14.-Effect of lipoprotein on blood lipids in patients with
myocardial infarction.

Kecha M. et al.

Pal. ed. J. 10: 583-9 (1971).