

11202
1

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO ²⁹

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION



EFFECTOS DE LOS ANTICONCEPTIVOS ORALES Y
VARIACIONES DURANTE EL CICLO MENSTRUAL
EN LAS CONCENTRACIONES EN SUERO DE
LIPIDOS Y LIPOPROTEINAS

T E S I S
Q U E P R E S E N T A

HUGO ALFONSO AHUMADA HEMER

PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE
LA REPRODUCCION
MEXICO, D. F.



1984



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 está 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

	<u>PAGINA:</u>
I INTRODUCCION:	1
I.1. DIGESTION Y ABSORCION DE GRASAS.	2
I.2. CLASIFICACION Y METABOLISMO.	4
I.3. LIPASA LIPOPROTEICA Y LCAT.	15
I.4. APOPROTEINAS.	17
I.5. PROGESTINAS SINTETICAS Y LIPOPROTEINAS EN SUERO.	21
II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	26
III MATERIALES Y METODOS:	29
III.1 MATERIAL CLINICO	29
III.2 METODOLOGIA	32
III.2.1. Colección y análisis de las muestras.	33
III.2.2. Exámenes de Laboratorio.	33
III.2.3. Métodos Estadísticos.	44
IV RESULTADOS.	45
V DISCUSION.	49
VI RESUMEN.	57
VII REFERENCIAS.	59

Los lípidos plasmáticos de interés clínico: Colesterol y triglicéridos, son transportados en complejas macromoléculas que contienen variedades de proteínas específicas como también fosfolípidos y otras sustancias lipofílicas. Los lípidos y lipoproteínas están involucradas en diversas enfermedades humanas, la más prevalente de las cuales es la aterosclerosis.

Los lípidos son compuestos orgánicos hidrofóbicos con importantes funciones biológicas y estructurales, los cuales actúan como agentes emulsivos y participan en los procesos de reconocimiento inmunológico a nivel de la superficie celular.

Los lípidos tienen como origen a los alimentos, así como también son sintetizados "de novo". Los triglicéridos representan el 40% de la ingesta calórica total de la dieta humana y más del 90% de la masa del tejido adiposo (la cual a su turno comprende el 10-35% del peso corporal). El colesterol que es el precursor metabólico de las hormonas esteroides y ácidos biliares, es un constituyente importante en las membranas plasmáticas, el cual es ingerido y sintetizado en proporciones similares (0.4 - 0.8 grs/día). Entre 1 y 2 gramos

de fosfolípidos son ingeridos diariamente.

Virtualmente todos los tejidos sintetizan algunos lípidos pero más del 95% del colesterol y gran proporción de los triglicéridos son sintetizados por dos tejidos: Las células absortivas del tracto gastrointestinal y las células parenquimatosas del hígado. Los triglicéridos son también sintetizados en grandes cantidades en el tejido adiposo.

Las lipoproteínas que contienen a los lípidos dietarios son ensambladas y secretadas desde las células absortivas del intestino y de aquí llegan a la corriente sanguínea y transportan lípidos a tejidos periféricos.

Los triglicéridos endógenamente ensamblados son transportados desde el hígado por lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD).

I.1 DIGESTION Y ABSORCION DE LIPIDOS:

Los lípidos de la dieta sufren una emulsificación progresiva cuando llegan al intestino delgado. Las sales biliares conjugadas que son secretadas a la luz intestinal en respuesta a la grasa dietaria son esenciales en este proceso. Posteriormente son hidrolizadas por lipasas específicas secretadas por el pancreas exócri

no, que actúan en las interfases aceite-agua. Estas enzimas son la lipasa pancreática, la hidrolasa de ésteres de colesterol (Colesterolesterasa) y la fosfolipasa que hidrolizan las uniones ésteres de triglicéridos ésteres de colesterol y fosfoglicerol respectivamente produciendo ácidos grasos, colesterol libre y lisofosfatidilcolina.

El glicerol y la lisofosfatidilcolina son hidrosolubles y rápidamente penetran a la fase acuosa del quimo. Las otras moléculas son hidrofóbicas, siendo las sales biliares combinadas con monoglicerol, ácidos grasos y pequeñas cantidades de colesterol las que forman micelas, constituyendo pequeños agregados moleculares que forman una solución clara en medio acuoso.

Estas micelas formadas por la digestión son lo suficientemente pequeñas para penetrar a los espacios de las microvellosidades de las células mucosas y quedan disponibles para la transferencia rápida de ácidos grasos de cadenas largas, monoglicéridos y colesterol dentro de la célula. Las sales biliares permanecen en la luz intestinal y son absorbidas en el ileo terminal (6).

La mayor parte de los lípidos son absorbidos en el duodeno y yeyuno proximal (58).

Los lípidos absorbidos son re-esterificados en la por

ción intracelular de la mucosa para formar nuevamente triglicéridos, ésteres de colesterol y fosfatidilcolina que junto con las apoproteínas son vertidas a la linfa en forma de quilomicrones (una variedad de lipoproteínas) que a través del conducto torácico alcanza el sistema venoso.

El intestino humano solo absorbe aproximadamente el 40% del colesterol dietario diario (300 mgrs) lo cual representa una defensa contra la hipercolesterolemia en el hombre. Contrariamente la capacidad del intestino para absorber ácidos grasos es ilimitada.

1.2 CLASIFICACION Y METABOLISMO:

Las lipoproteínas plasmáticas originalmente descubiertas por Mecheboeuf en 1929 (47), representan complejos macromoleculares de componentes proteínicos y lipídicos específicos. Transportan los lípidos plasmáticos insolubles en agua, en forma coloidal estable. Debido a su alto contenido en lípidos, las lipoproteínas plasmáticas son de menor densidad que otras proteínas en la circulación. Esta propiedad hace posible el aislamiento de la lipoproteína por flotación ultracentrífuga en soluciones salinas. En el sentido estricto de la palabra, el complejo albúmina-ácido graso no esterificado

representa una lipoproteína. La densidad de este complejo es mayor que aquella empleada normalmente para las lipoproteínas plasmáticas (densidad mayor de 1.21 grs/ml). También hay apoproteínas y lípidos en el plasma con una densidad mayor de 1.21 grs/ml. Los lípidos que se encuentran en esta fracción son principalmente los fosfolípidos, de los cuales el más prominente es la lisolecitina.

El sistema adoptado de clasificación por ultracentrifugación de las lipoproteínas se encuentra basado en sus tasas de flotación a 26°C y densidad de 1.063 y 1.21 grs/ml. La tasa de flotación medida en unidades Sverberg (se designa como Sf) y la movilización electroforética han sido las bases para la clasificación tradicional de las lipoproteínas plasmáticas (Tabla 1).

Las lipoproteínas plasmáticas pueden ser agrupadas en cuatro clases principales o familias separadas por esos métodos:

a). QUILOMICRONES: La más grande de las lipoproteínas transporta grasas dietarias y esteroides desde el intestino delgado. El tamaño de las partículas y otras propiedades son dependientes de las condiciones bajo las cuales son colectadas. Después de alcanzar la circula

TABLA I

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS FAMILIAS DE LIPOPROTEÍNAS EN EL HUMANO (53).

Familia	Rango de densidad gr/ml	Rango de flotación (Sf)	Movilidad Electrofo- rética	Diámetro \bar{d} (A)	TG (%)	Coles- terol (%)
Quilomicrones	0.95- 0.97	400	Origen	760-6000	86	6 .
LMBD	0.95 1.006	20-400	α_2 globulina	250-750	50	20
LBD	1.006- 1.063	0.20	β globulina	170-260	8	40
LAD	1.063- 1.21	1-10	α_2 globulina	70-120	8	16

ción desde el conducto torácico, transforman su composición de ácidos grasos y probablemente su contenido de apoproteínas. Son ricos en triglicéridos y contienen solamente del 1 al 2% de proteínas por peso. Las apoproteínas consisten de aproximadamente 66% de apo C (apo C-I, apo C-II y apo C-III), 22% de apo B y 12% de apo A. Los quilomicrones colectados de la linfa intestinal contienen menos apo C que los del plasma. Los apo C se transfieren rápidamente entre lipoproteínas de alta densidad (LAD) y las lipoproteínas ricas en triglicéridos (7, 24). No se conocen los pasos precisos involucrados en la síntesis de quilomicrones. Son principalmente sintetizados en la mucosa yeyunal. La resíntesis de triglicéridos de los productos de la digestión en la mucosa intestinal ocurre en el retículo endoplásmico liso. Es muy probable que la apo B sea sintetizada en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso. Los fosfolípidos muy probablemente provienen de las membranas plasmáticas y del retículo endoplásmico liso y rugoso. Los fosfolípidos y apo B deben asociarse con los triglicéridos sintetizados en el retículo endoplásmico liso.

Los quilomicrones son las lipoproteínas que más rápidamente se catabolizan, son removidos de la circulación en menos de una hora. El catabolismo se realiza por lo me

nos en dos fases: En la fase I son hidrolizados en los tejidos periféricos a través de la mediación de la lipasa triglicérida (lipasa lipoprotéica) que se encuentra presente en el endotelio capilar. A consecuencia de ésta hidrólisis periférica, la partícula es reducida a "remanentes" ricos en colesterol. En la segunda fase del catabolismo de los quilomicrones las partículas remanentes son removidas por el hígado. Por la hidrólisis se forman inicialmente ácidos grasos libres y glicéridos. Posteriormente los glicéridos pueden ser hidrolizados dentro de las vacuolas de las células capilares y los ácidos grasos libres son liberados al espacio extravascular, donde están disponibles para la captación por células tisulares o para su recirculación en el plasma.

b). LIPOPROTEINAS DE MUY BAJA DENSIDAD (LMBD) o VLDL (very low density lipoproteins): Se combinan con quilomicrones y con las lipoproteínas de baja densidad (LBD) en los dos extremos del rango de densidad. Su composición depende del tamaño de la partícula (60). La proporción de triglicéridos y apoproteínas C es mayor en las partículas grandes y la de fosfolípidos, apo B y proteínas totales son mayores en partículas más pequeñas. La apo B constituye aproximadamente el 25-35% de las pro

teínas de LMBD, apo C entre el 35 a 50%, apo E el 7 a 12% y apoproteínas menores comprenden el resto.

Estas lipoproteínas transportan triglicéridos endóg
namente sintetizados. El sitio principal de su sínte
sis es el hígado, siendo el intestino una fuente secun
daria según lo indican estudios realizados en animales
de experimentación. Su liberación es inhibida por
agentes tales como colchicina y vincristina, el ácido
orótico también inhibe su síntesis o liberación a tra
vés de mecanismos que aún no son entendidos. Como el
intestino no sintetiza apo C, éstas son adquiridas de
la circulación o de la linfa meséntérica. Aunque la
apo C es sintetizada por el hígado hay evidencias que
indican que la LMBD obtiene su apo C solamente después
de la transferencia desde la LAD circulante (7,66).

Estudios con lipoproteínas radiactivas indican que los
"remanentes" de LMBD formados por la hidrólisis de los
triglicéridos, son principalmente convertidos a LBD. En es
ta conversión de LMBD a LBD los lípidos son hidroli
zados en tejidos extrahepáticos. El 99% de los trigli
céridos son removidos y las apos C se transfieren a
LAD. Un producto de la hidrólisis es la lipoproteína
de densidad intermedia (LDI) o IDL (intermediate densi
ty lipoproteins), que en recientes estudios la han se

parado de la LBD con un rango de densidad de 1.006 a 1.019 grs/ml, siendo la de LBD de 1.019 - 1.063 mg/ml. Su tasa de sedimentación es 12 a 20 Sf y la de LBD de 0 a 12. Su concentración plasmática en estados posab sortivos en sujetos normales es de 0 a 40 mgs/dl y se han registrado concentraciones plasmáticas más altas en sujetos mayores de 50 años de edad. Su componente lipídico más abundante son los ésteres de colesterol pero hay cantidades significativas de triglicéridos. Su proteína principal es la apo B y no se conoce en la actualidad si son degradadas a LBD en el endotelio ca pilar periférico o si son inicialmente removidas y pos teriormente catabolizadas por el hígado.

c). LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD (LBD) o LDL (low density lipoproteins): Tienen movilidad beta en elec troforesis, estas partículas contienen aproximadamente el 75% de lípidos y 25% de proteínas por peso. Su prin cipal apoproteína es la apo B que comprende el 90% de las proteínas totales. Su composición en lípidos pro medio (en porcentaje) por peso es: fosfolípidos 28%, triglicéridos 13%, colesterol no esterificado 11% y és teres de colesterol 47%.

Su estructura contiene un centro interno de éster de colesterol, una cubierta externa de apoproteína y fos folípidos y una cubierta intermedia separada de éster

de colesterol. Se ha asumido que los quilomicrones y las LMBD tienen una forma pseudomicelar. En este modelo los lípidos neutros, ésteres de colesterol y triglicéridos se localizan en la región central; las proteínas, fosfolípidos y colesterol libre están orientados hacia la superficie. Cuando sucede la hidrólisis de triglicéridos en los quilomicrones y LMBD las apoc, los fosfolípidos y colesterol no-esterificados se transfieren de la superficie de aquellas partículas a la LAD para mantener la proporción superficie/centro. Se piensa que la LBD en humanos sea derivada en gran parte de la LMBD, pero es posible que alguna LBD se sintetice directamente en el hígado, particularmente en algunas formas de hiperlipoproteinemias (20). La LBD son metabolizadas dentro de la célula principalmente en los tejidos periféricos ofreciendo una proporción importante de sus requerimientos de colesterol. Esta acción es mediada por receptores de alta afinidad (25) los cuales favorecen la introducción de las LBD y liberan su contenido de colesterol después de la hidrólisis que ocurre en lisosomas secundarios.

El efecto sobre el metabolismo de la LBD en el hombre, ocasionado al modificar su apoproteína para evitar su reconocimiento por el receptor, sugiere que este proce

so ocurre "in vivo". Esto disminuye sustancialmente su velocidad fraccionaria de catabolismo. Por lo tanto la LMBD y LBD proporcionan el transporte centrífugo de lípidos desde el hígado y el tubo digestivo hacia la periferia. Es posible que algo de LBD sea catabolizada en el hígado y que la LBD deje un remanente de éster de colesterol cuando pasa a través de este órgano (67), el cual puede transferirse a la LMBD y así iniciar un nuevo ciclo.

La apoproteína B de los residuos de los quilomicrones es reconocida por los receptores B de las células hepáticas, en tanto que la apo B de las partículas de LBD es reconocida por los receptores B de las células periféricas. De esta manera las partículas de LBD son catabolizadas en las membranas celulares constituyendo la denominada "via de la LBD" de Brown y Goldstein (25), la cual regula el contenido celular de colesterol que es usado para la síntesis de las membranas y ser utilizado como precursor para síntesis de hormonas esteroides.

Además de su degradación ya mencionada algo de LBD es degradada por el sistema de "células de deshecho" (Scavenger cells) que consisten en células fagocíticas del sistema reticuloendotelial. Se piensa que este paso funciona solamente para degradar LBD cuando alcanza altas

concentraciones en el plasma (Figura 1).

El ciclo del tababolismo de LBD está íntimamente rela
cionado a la regulación de la síntesis del colesterol
en tejidos periféricos. En condiciones adecuadas de
homeostasis, el colesterol debe ser transportado desde
la periferia hacia el hígado para su depuración por el
sistema biliar. Este papel puede ser llevado a cabo
por la LAD.

d). LIPOPROTEINA DE ALTA DENSIDAD (LAD) o HDL (high den
sity lipoproteins): Esta lipoproteína contiene más pro
teínas (45-55 % por peso) y menos lípidos que las otras
familias de lipoproteínas plasmáticas. Sus principales
lípidos son: fosfolípidos (42 a 51 %), colesterol (30
a 40 %) y triglicéridos (6 a 12%). Tienen movilidad
alfa en electroforesis y son subdivididas en fracciones
de densidad variando de 1.063 a 1.120 grs/ml (LAD₂) y
de 1.120 a 1.210 grs/ml (LAD₃). La concentración de
LAD₂ es aproximadamente tres veces más alta en mujeres
premenopáusicas que en los hombres. La LAD₃ contiene
relativamente más proteínas y menos lípidos neutros que
LAD₂ (61).

La apo A-I y apo A-II representan casi el 90% de la pro
teína total de LAD. El grupo C de las apoproteínas com

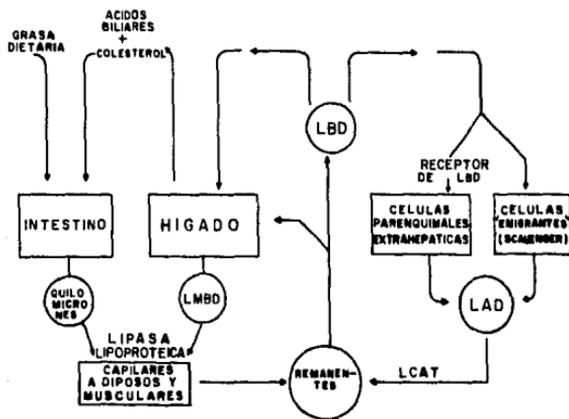


Figura 1. Metabolismo de lipoproteínas y transporte de triglicéridos y colesterol en el humano (9).

prende aproximadamente el 5 % y la apo D y otras especies menores el 5 % restante.

La mayoría de los estudios sobre la síntesis de LAD han sido llevados a cabo en roedores, existiendo a este respecto evidencias directas sobre la síntesis hepática e intestinal de la LAD. La LAD liberada por el hígado contiene las apos A recientemente sintetizadas y las apos C. El hígado también forma y secreta lecithin-cholesterol-acyl-transferase (LCAT) la cual es activada por la apo A-1 y actúa sobre la LAD naciente para formar ésteres de colesterol, sirviendo como "sustrato" natural para la reacción de LCAT. La fosfatidilcolina en LAD sirve como donador de acyl y el colesterol en LAD como el receptor. Los ésteres de colesterol se intercambian fácilmente entre las lipoproteínas por ejemplo: entre LAD y LMBD. Glomset (23) ha postulado que la LAD sirve como un vehículo receptor para el transporte de colesterol no-esterificado desde las membranas plasmáticas extra-hepáticas hacia el hígado. Se piensa que el hígado es el sitio principal del catabolismo de la LAD, pero no hay pruebas directas de que exista y aún no se ha descartado el catabolismo extra-hepático de esta lipoproteína (22). A este respecto se han descrito la presencia de receptores para LAD en la superficie de las células hepáticas.

La inyección de lipoproteínas ligadas al colesterol ra diactivo en un sujeto con fístula biliar ha mostrado la utilización preferencial del colesterol libre de la LAD por la glándula hepática como precursor de los ácidos y colesterol biliares.

1.3 LIPASA LIPOPROTEICA Y LCAT.

Las modificaciones estructurales de las lipoproteínas en plasma involucran la interacción de lipoproteínas y enzimas. La primera interacción después de que los qui lomicrones y LMBD entran al plasma envuelve la apo C de la LAD. La siguiente interacción ocurre entre las li poproteínas y la lipasa lipoprotéica (o lipoproteinli-pasa). Esta enzima ha sido identificada en diversos órganos incluyendo la aorta, corazón, músculo esquelético, tejido adipo, glándula mamaria, pulmones y ri ñones. Su actividad es notablemente incrementada en los primeros minutos después de la inyección intravenosa de heparina, lo que sugiere que la enzima está estre chamente ligada a las células endoteliales y es extraí da hacia el plasma por la heparina (65).

Aún no se conoce el mecanismo de acción molecular de la lipasa lipoprotéica sin embargo, es claro que la enzima es virtualmente inactiva contra las emulsiones de lípidos libres de proteínas y es bastante activa cuand o apo C-II se incluye en las emulsiones. Su actividad en tejidos adiposo disminuye durante el ayuno y en si tuciones patológicas como en la diabetes, y es mucho más elevada en animales deprivados de alimento y pos teriormente re-alimentados. En el tejido mamario la ac

tividad enzimática es relativamente baja hasta el parto a partir del cual se incrementa hasta diez veces. La inulina, el glucagon, los estrógenos y oxandrolona* afectan la actividad de la lipasa. La insulina y la oxandrolona la incrementan y los demás la disminuyen (62).

La importancia de esta enzima se hace evidente por las manifestaciones derivadas de las anormalidades del metabolismo de las lipoproteínas en sujetos con hiperlipoproteinemia familiar tipo I (hiperquilomicronemia) en quienes se encuentra ausente la actividad enzimática (6).

Otro ejemplo de interacciones que parecen ser importantes en el metabolismo intravascular de quilomicrones y LMBD, es su transformación por LCAT. Esta enzima es secretada por el hígado y es la responsable de la mayor parte de la producción de los ésteres de colesterol en el plasma. Su actividad se incrementa "in_vivo" por apo A-I y apo C-I. Su importancia fisiológica se aprecia en dos enfermedades secundarias a deficiencias heredadas : la deficiencia de LCAT y la deficiencia de apo A o también llamada hipoalfolipoproteinemia (Enfermedad de Tangier). (62).

* 17 beta hidroxí-17 metil-2 oxa-5-alfa-androstan-3-ona.

1.4. LAS APOPROTEINAS.

El término apolipoproteína se refiere al compuesto proteico de las lipoproteínas y se designa a estos componentes como libres de lípidos. Su composición en cada familia de lipoproteínas es heterogénea. En la actualidad se duda sobre la adopción prematura de un sistema de nomenclatura, debido a los recientes descubrimientos de múltiples proteínas y por el estado incompleto de su caracterización sin embargo, Alaupovic (3) ha sugerido un sistema de designación (A, B, C) basado en la teoría de su organización biológica.

a). Apoproteína A-I:

Es la proteína principal de LAD en humanos y otras especies estudiadas. Activa a la LCAT y puede tener una función en la regulación y fluidez de las membranas. Interactúa con la fosfatidilcolina más fácilmente que con la esfingomielina.

b). APO A-II:

Representa aproximadamente el 30% de las apos de LAD. Se encuentra solo en cantidades pequeñas en otras familias de lipoproteínas. Interactúa más fácilmente con la esfingomielina que con fosfatidilcolina quedando por definirse su papel fisiológico.

c). APO B:

Constituye el 90% de las proteínas de LBD. Es también una proteína importante de los quilomicrones y LMBD. Tiene un papel importante en el transporte de los triglicéridos desde el intestino e hígado al plasma.

d). APO C-I:

Es la más pequeñas de las apoproteínas caracterizadas. Representa el 10% de las apos de LMBD y el 2% de las apo-LAD. Activa a la LCAT.

e). APO C-II:

Comprende entre el 5 al 10% del total de apo-LMBD y en contrándose en pequeñas cantidades en apo-LAD. Se recombina con la lecitina para formar lipoproteínas discoidales que se asemejan a la LAD nativa. Es una potente activadora de la lipasa lipoproteica del tejido adiposo, pero no de la hidrolasa triglicérida hepática.

f). APO C-III:

Es la más abundante de las apos C y representa entre el 25 y el 30% de las apos-LMBD y el 2% de las apos-LAD. Bajo condiciones apropiadas "in vitro" puede inhibir la lipasa lipoproteica. Se desconoce su significado biológico.

g). APO D:

Parece constituir el 5% ó menos del total de las apo LAD. Kostner (36) ha mencionado la activación de LCAT por apo D.

h). APO E:

Se conoce como una apoproteína "rica en arginina". Representa entre el 6 y el 12% de las apo-LMBD en sujetos normales. Parece que está involucrada íntimamente en el transporte de colesterol pero se desconocen los detalles de esta función.

CICLO DE LAS APOPROTEINAS:

En el plasma de sujetos normales en ayunas el 90% de la apo A está asociada con LAD, el 90% de la apo B está en LBD y la apo C está equitativamente distribuída entre LMBD y LAD. Durante la absorción de grasas el intestino elabora protefina A y B cuando los quilomicrones son secretados. Las apo C sin embargo no son sintetizadas por la mucosa intestinal y la LAD debe proveerlas a los quilomicrones. Cuando los triglicéridos de los quilomicrones son hidrolizados en los tejidos muscular y adiposo, el ciclo de la apo C regresa a la LAD. La apo C aparentemente tiene elevada

afinidad por las lipoproteínas ricas en triglicéridos, pero su vida media en sangre se acorta cuando la LAD es anormal.

No está claro si la apo A es resintetizada después de que los lípidos de LAD son catabolizados, tampoco hay evidencias de que apo B recicle ya que no se intercambia entre las lipoproteínas ni se reincorpora a los quilimicrones o LMBD de nueva síntesis.

1.5. PROGESTINAS SINTETICAS Y LIPOPROTEINAS EN SUERO:

Mientras que los efectos de los estrógenos sobre los lípidos y lipoproteínas en suero han sido objeto de varios estudios, existe relativamente poca información sobre la influencia y repercusiones de la progesterona y sus derivados en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas sanguíneos (29, 35).

Los lípidos y lipoproteínas en suero han recibido mucha atención por la relación que tienen con enfermedades cardiovasculares y la aterosclerosis. Las concentraciones de LBD están claramente relacionadas al desarrollo de enfermedad coronaria (44, 56). La LAD por el contrario, está inversamente relacionada a riesgo cardiovascular (11, 45, 46) particularmente en sujetos de edades mayores de 50 años en quienes el colesterol total no es "un factor de riesgo" importante(23).

Estudios epidemiológicos han demostrado que niños de ambos sexos menores de 14 años tienen patrones lipoproteícos similares. Durante la pubertad, los valores de colesterol sérico disminuyen en los sujetos masculinos reflejando cambios pronunciados de la LAD. Por el contrario, LAD-colesterol queda inalterada durante la pubertad en las mujeres y se incrementa levemente con la edad

(8, 39, 42). Las mujeres en edad fértil tienen valores menores de LBD que los hombres significando un riesgo menor de enfermedad coronaria. Por otra parte, la asociación entre LMBD y este riesgo es todavía materia de controversia (27). Estudios epidemiológicos han demostrado que muchos factores influyen sobre las concentraciones de lipoproteínas en suero, de tal forma que el tabaquismo, la obesidad, tratamiento con agentes beta bloqueadores, dietas ricas en carbohidratos y dietas ricas en grasas poli-insaturadas reducen los niveles de LAD (53). El ejercicio físico regular y el consumo de alcohol, son factores asociados con niveles aumentados de LAD (16, 17, 25, 32, 33, 37, 38, 40, 41).

Los quilomicrones se encuentran normalmente bajos durante el ayuno, sin embargo no han sido asociados a enfermedades vasculares, aunque se ha sugerido la participación de los "remanentes" de los quilomicrones en la formación de ateromas.

Para evaluar los efectos de los análogos de la progesterona en el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas, se debe prestar especial cuidado al hecho de que los efectos progestacionales de estos esteroides sintéticos, están acompañados por otras acciones farmacológicas que difieren de aquellas derivadas de la hormona nativa (16,

35). También debe tenerse en cuenta las dosis utili
zadas, duración del tratamiento, uso concomitante de
otros fármacos, edad y estado clínico de las usuarias,
así como también los métodos utilizados para la cuanti
ficación de lípidos y lipoproteínas.

En los últimos años se han realizado varios estudios
para evaluar el efecto de las formulaciones utilizadas
en la anticoncepción sobre lipoproteínas en el suero.
A este respecto se ha observado tanto el aumento y dis
minución en los lípidos durante el tratamiento. Esto
es debido parcialmente a las variables combinaciones far
maceúticas empleadas para el control de la fertilidad,
en las diferentes preparaciones comerciales durante los
últimos 10 a 15 años. Por ejemplo, se ha disminuído el
contenido de estrógenos sin pérdida del efecto anticon
ceptivo, notándose sin embargo una frecuencia menor en
la aparición de fenómenos tromboembólicos (7, 42). Por
otra parte la dosis utilizada del progestágeno ha sido
variable y desde el comienzo de los años 70, solo deri
vados de la testosterona (derivados de la 19-nortestos
terona) han sido utilizados en las preparaciones anti
conceptivas (63, 67).

Entre los progestágenos más utilizados de la serie 19-
nortestosterona se encuentran la noretindrona (17 alfa

etinil-17 beta hidroxil-4 en, 3 ona) (noretisterona) y el levonorgestrel (d-18-etil-17 alfa etinil-17 beta hidroxil-4 gonen-3 ona) (48) los cuales han recibido mayor atención con referencia a sus efectos sobre el metabolismo de lípidos y lipoproteínas. La fórmula estructural de los derivados de la 19-nortestosterona se muestra en la fig. 2. El acetato de noretindrona (17 alfa etinil, 17 beta acetoxil, 4 en, 3 ona) es un derivado de la noretisterona con idénticas propiedades biológicas excepto en su mayor potencia. Difiere del levonorgestrel por la sustitución del grupo etilo por un grupo metilo en el carbono número 13 de la molécula del esteroide. Además de sus propiedades progestacionales, ambos poseen actividades androgénicas así como anti-estrogénicas (16, 55-56). Varios estudios relacionados a los efectos de los derivados de la 19-nortestosterona sobre las lipoproteínas obtenidas del suero de mujeres menopaúsicas, han demostrado su estrecha relación con la reducción en LAD-colesterol (9, 11, 19, 24, 27, 34). Esta disminución en LAD-colesterol es dependiente de una variedad de factores como la dosis y la presencia o no del componente estrogénico. Estos hallazgos han demostrado la dependencia de LAD a los compuestos hormonales con actividad estrogénica. Los efectos de estos progestágenos sobre los triglicéridos, LMBD y LBD son menos clá

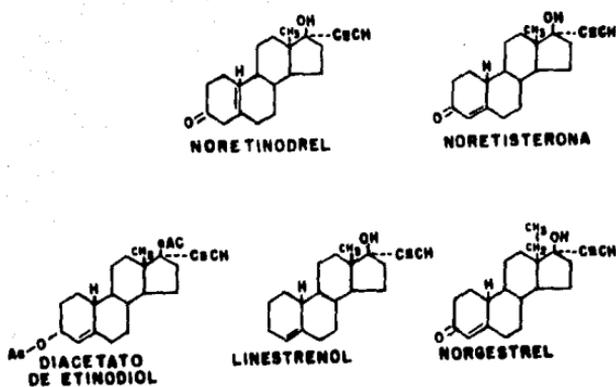


Figura 2. Estructura química de los derivados de la 19-nortestosterona más utilizados en anticoncepción hormonal.

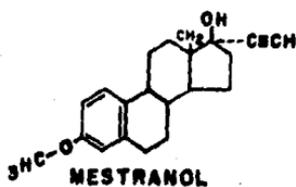
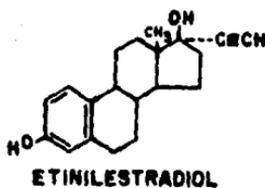


Figura 3. Estructura química de los derivados sintéticos del etinilestradiol más utilizados en anticoncepción hormonal.

ros. Algunos investigadores han encontrado disminución en los triglicéridos del suero y en LMBD-colesterol con un incremento en LBD-colesterol (63, 70, 74). Gustafson (26) combinando noretisterona con etinilestradiol informa la disminución en triglicéridos, así como en LMBD-colesterol aunado al incremento en LBD-colesterol.

Se ha demostrado que el acetato de noretindrona es efectivo en disminuir los niveles de triglicéridos en suero de pacientes con hipertrigliceridemia, este efecto va acompañado de una actividad incrementada de la lipasa liberada con heparina, aunque el mecanismo más probable es la inhibición de la síntesis de triglicéridos hepáticos.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El conocimiento de los mecanismos que regulan el metabolismo de lípidos y lipoproteínas nos ha permitido establecer que los componentes hormonales en anticoncepción son factores que predisponen al proceso de formación de ateromas secundarios a los depósitos de colesterol en asociación con otros eventos de riesgo bien conocidos. Estos hechos de observación han redituado en estudios prospectivos tendientes a confirmar la relación entre el uso y dosis de esteroides sintéticos y el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, poniendo especial énfasis en el componente progestacional.

En apoyo a estas observaciones se encuentra el hecho de que los estrógenos guardan relación directa con las concentraciones de LAD-colesterol, mientras que los progestágenos están inversamente relacionados con ellas.

A este respecto existe controversia en los cambios de lípidos y lipoproteínas que ocurren durante el ciclo menstrual normal. Demacker y cols (15) no informan cambios significativos en las concentraciones de colesterol, triglicéridos, LBD-colesterol y LAD-colesterol durante el ciclo menstrual normal. Sin embargo otros investigado-

res (33) refieren la presencia de cambios caracterizados por la disminución de colesterol plasmático y LBD colesterol en la fase lútea. La mayoría de estos cam bios han sido descritos después de la elevación de 17-beta estradiol que ocurre en la mitad del ciclo sin em bargo, es importante mencionar que la metodología em pleada no tiene la especificidad, sensibilidad y exac titud necesarias por no contar con un procedimiento más adecuado para el fraccionamiento de las diferentes fa milias de lipoproteínas.

Hasta ahora no se conocen estudios sobre el pérfil de lípidos y lipoproteínas en la población normal femeni na Mexicana. En el presente trabajo decidimos investi gar las variaciones en las concentraciones en suero de lípidos y lipoproteínas en niveles bajo control hormo nal de la fertilidad, así como los cambios en sus con centraciones circulantes durante el ciclo menstrual nor mal.

OBJETIVOS GENERALES

Los objetivos en el presente estudio son:

- A). Confirmar si existen o no variaciones en las concentraciones de lípidos y lipoproteínas durante el ciclo menstrual de mujeres adultas sanas en la población Mexicana.

- B). Analizar los cambios en el patrón de lípidos y lipoproteínas en el suero de mujeres normales, bajo control hormonal de la fertilidad.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- A). La cuantificación en suero de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos, así como sus contenidos - en las diferentes fracciones: LAD, LBD y LMBD.

- B). El empleo de levonorgestrel en dos diferentes dosis (250 y 150 ugrs) y la noretindrona (1 mgr) combinadas con etinilestradiol.

III. MATERIALES Y METODOS

III.1). Material Clínico:

El estudio se llevó a cabo de la siguiente manera: Se incluyeron cuarenta y cinco mujeres voluntarias sanas en edad reproductiva con promedio de 24.4 ± 4.4 (DE) años de edad, reuniendo los siguientes criterios de selección: La presencia de ciclos menstruales regulares en los últimos seis meses previos al estudio (los ciclos regulares se consideran de una longitud entre 24 y 35 días según el criterio de la O.M.S.) sin antecedentes en el uso de ningún método anticonceptivo hormonal, así como de lactancia por lo menos tres meses previos al comienzo del estudio. Las pacientes con antecedentes de parto o aborto durante el último año, presencia de enfermedades metabólicas como la diabetes o cualquiera otra endocrinopatía, antecedentes de enfermedad tromboembólica (incluyendo enfermedades cerebrovasculares), hipertensión arterial (considerando como tal la presión sistólica mayor de 140 ó la presión diastólica mayor de 90 mm. de hg.) y enfermedades hepáticas recientes incluyendo la ictericia recurrente del embarazo no fueron incluidas en el estudio, así como la historia de la ingesta de barbitúricos, anticonvulsivos, antibióticos, este

roides sistémicos o droga de uso profiláctico. A todas las participantes en el estudio se les informó de los fines y objetivos del proyecto y se obtuvo por escrito la aceptación de cada una de ellas.

Las participantes en este estudio fueron divididas en dos grupos para cumplir con los siguientes objetivos:

Objetivo A: Variaciones de Lípidos y Lipoproteínas durante el Ciclo Menstrual:

Para investigar las fluctuaciones en las concentraciones de lípidos y lipoproteínas en mujeres normales de edad reproductiva, se incluyeron diecinueve mujeres en las cuales se obtuvo una muestra de sangre durante la fase proliferativa y veinticinco mujeres fueron incluidas en la fase lútea.

Objetivo B: Efecto de Hormonales Combinados en el Patrón en Suero de las Diferentes Fracciones de Lípidos y Lipoproteínas:

Para el cumplimiento de este objetivo se incluyeron veincuatro mujeres normales en edad reproductiva en las cuales previamente se establecieron las concentraciones circulantes de las diferentes fracciones de lípidos y lipoproteínas durante la fase lútea del ciclo menstrual. El efecto de la administración de tres preparaciones hormonales conteniendo de manera combinada el estrógeno y la

progestina en las concentraciones circulantes de las diferentes fracciones de lípidos y lipoproteínas, se valoró a los tres meses de tratamiento. Las voluntarias fueron distribuidas en los siguientes grupos:

Grupo I: Administración durante tres meses de 250 ugrs de levonorgestrel combinados con 50 ugrs de etinilestradiol.

Grupo II: Administración durante tres meses de 150 ugrs de levonorgestrel combinados con 30 ugrs de etinilestradiol.

Grupo III: Administración de 1 miligramo de acetato de noretindrona combinado con 50 ugrs de etinilestradiol.

Las tabletas fueron tomadas diariamente durante tres semanas seguidas por una semana con placebo. La duración fue de tres ciclos consecutivos. Se tomaron muestras para la determinación de lípidos y lipoproteínas, antes del tratamiento y durante el tercer ciclo de tratamiento con anticonceptivos orales.

Al momento de la admisión se llenaron las historias clínicas. Los detalles de las participantes, incluyendo edad, talla, peso, índice de Quetelet* (22) y superficie corporal según Boyd, tanto del grupo de la fase prolife

rativa y del grupo que tomó anticonceptivos orales se muestran en las Tablas II y III.

III.2). Metodología:

Las muestras sanguíneas se colectaron en las visitas subsecuentes de cada participante a la Clínica de Planificación Familiar del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Las participantes asistieron en estado de ayuno de 12 a 14 horas previas a la colección de las muestras, sólo se ingirió agua y se evitó el cigarillo durante la noche previa a la colección de la muestra. Todas las muestras fueron colectadas en la mañana y se evitó el ejercicio físico antes de la colección de las muestras, las participantes descansaron por lo menos diez minutos antes de la colección.

Se obtuvieron 20 cc de sangre a través de la vena antecubital por medio de una jeringa plástica y agujas de sechables, evitándose la éstasis sanguínea con la finalidad de preveer la hemoconcentración, las muestras se transfirieron a tubos de vidrios limpios y el suero se obtuvo al centrifugarse a 3000 rpm durante 15 minutos a 4°C.

* I.Q. = peso (en kg)/estatura² (en cms).

TABLA II: DETALLES CLINICOS DE LAS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO.

Op. Fase Prolifera tiva	Edad (años)	Talla (cms)	Peso (kgs)	Índice de Quetelet (kg/cm ²).	Sup. Corporal (m ²) (BOYD)*	Día del Ciclo
1	21	153	55	23.5	1.55	10
2	23	165	58	21.3	1.64	12
3	22	160	58	22.6	1.62	10
4	19	160	59	23.0	1.64	12
5	27	148	44	20.0	1.36	10
6	23	158	55	22.0	1.57	7
7	33	158	50	20.0	1.49	9
8	20	159	54	21.3	1.55	8
9	23	157	59	23.9	1.63	5
10	21	151	57	25.0	1.58	5
11	22	160	58.5	22.8	1.63	9
12	33	168	65	23.0	1.75	14
13	32	154	52	21.9	1.51	9
14	31	148	52	23.7	1.49	4
15	23	159	49	19.3	1.47	13
16	28	150	47	20.8	1.41	11
17	25	150	46	20.4	1.40	8
18	32	158	49	19.6	1.47	8
19	23	155	44.6	18.5	1.39	4
20	20	157	50.5	20.4	1.49	5

$\bar{X} \pm DE:$ 25 \pm 4.7 1.56 \pm 0.0 53.1 \pm 5.6 21.6 \pm 1.7 1.53 \pm 0.1

* La superficie corporal se calculó de acuerdo a la fórmula de Boyd adaptada para ser usada en una calculadora Hewlet Packard Modelo 67.

TABLA III. DETALLES CLINICOS DE LAS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO.

Grupo fase lútea	Edad (años)	Talla (cms)	Peso (Kgs)	Indice de Quetelet	Sup. Cor ² poral (m ²) (BOYD)*	Día del Ciclo
1	25	157	56	22.7	1.5	17
2	29	158	66	26.4	1.7	21
3	20	155	49	20.4	1.4	26
4	23	152	44	19.0	1.3	23
5	28	144	51	24.5	1.4	24
6	26	155	59	24.5	1.6	25
7	26	148	59	26.9	1.6	21
8	27	149	49	22.0	1.4	22
9	18	144	49	23.6	1.4	19
10	20	157	51	20.6	1.5	27
11	32	160	61	23.8	1.6	23
12	30	163	53	19.9	1.5	16
13	19	157	58	23.5	1.6	31
14	18	159	59	23.3	1.6	21
15	22	147	52	24.0	1.4	26
16	24	144	51	24.5	1.4	24
17	26	154	55	23.1	1.5	27
18	26	156	63	25.8	1.6	16
19	20	159	49	19.3	1.4	18
20	20	157	61	24.7	1.6	29
21	22	156	59	24.2	1.6	27
22	31	158	48	19.2	1.4	16
23	19	148	44	20.0	1.3	23
24	25	170	58	20.0	1.6	22
25	20	158	58	23.2	1.6	21

X ± DE: 23.8 ± 4.1 154 ± 0.0 54.5 ± 5.7 22.7 ± 2.3 1.54 ± 0.1

* La superficie corporal se calculó de acuerdo a la fórmula de BOYD, adaptada para ser usada en una calculadora Hewlett Packard, Modelo 67.

CUANTIFICACION DE LIPOPROTEINAS:

Para fraccionar las lipoproteínas del suero se utilizan tubos de centrifuga en los cuales se vertieron 5 ml de una solución de cloruro de sodio a una densidad de 1.063 gms por ml agregándose 4 ml de suero y 3 ml de cloruro de sodio a una densidad de 1.006 gm por ml. Los tubos se transfirieron al cabezal (Titanium 50) para su ultracentrifugación utilizándose una ultracentrifuga BECKMAN L8-70. La ultracentrifugación se llevó a cabo a 100 000 x g durante 22 horas a 4°C. Al finalizar, los tubos de centrifuga fueron cortados en 3 segmentos previamente establecidos correspondiendo al segmento superior la porción conteniendo LMBD, el medio a LBD y el inferior a LAD. Las 3 fracciones fueron congeladas a -20°C para su análisis posterior.

CUANTIFICACION DE COLESTEROL:

El colesterol total fue determinado por el método CHOD-PAP enzimático de Roschlau (59) de la casa Boehringer-Mannheim.

Material de prueba: Suero, plasma con heparina o EDTA.

	<u>CONTENIDO:</u>	<u>CONCENTRACIONES:</u>
1	Solución amortiguadora de fosfato de potasio	0.4 ml/l; pH 7.7
	Fenol	20 mmol/l.
	Metanol	1.85 mmol/l.
2	Solución amortiguadora de fosfato de potasio	0.4 mmol/l pH 7.7
	4-Aminofenozona	2 mmol/l
	Metanol	1.85 mmol/l
	Hidroxipolietoxidodecano	0.4 %
3	Colesterolesterasa	≥ 40 U/ml
	Colesteroloxidasa	≥ 12 U/ml
	Peroxidasa	≥ 8 U/ml

El fundamento de la prueba es el siguiente:

Esteres de colesterol + H₂O $\xrightarrow{\text{colesteroesterasa}}$ colesterol + AC Grasos.

Colesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{colesterooxidasa}}$ Δ^4 -colestonona + H₂O₂.

2 H₂O₂ + 4-aminofenazona + fenol $\xrightarrow{\text{peroxidasa}}$
4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenzona
+ 4 H₂O.

Método de Determinación:

Longitud de onda: Hg 546 nm (470-560 nm).

Espectrofotómetro: 500 nm.

Cubeta: 1 cm de paso de luz.

Temperatura de incubación: 20-25°C ó 37°C.

Medida frente al blanco reactivo (BR)

Se sospecha hipercolesterolemia a partir de 220 mg/100 ml ó 5.7 mmol/l. Y el colesterol está elevado a partir de 260 mg/100 ml ó 6.7 mmol/l.

METODO DE DETERMINACION

Pipetear en una cubeta

	Blanco reactivo	Prueba
Material de prueba		0.02 ml
Solución 4	2.00 ml	2.00 ml

Mezclar, incubar BR y prueba 30 min a 20-25°C ó durante 15 min a 37°C. Leer la extinción de la prueba frente al BR dentro de 2 horas= E_{prueba} .

Cálculo

La concentración (C) del colesterol en la prueba se calcula según:

LONGITUD DE ONDA	mg/100 ml	mmol/l.
Hg 546 nm	$C=855 \times E_{prueba}$	$C=22,1 \times E_{prueba}$
500 nm	$C=585 \times E_{prueba}$	$C=15.1 \times E_{prueba}$

CONTROL DE CALIDAD:

Para efectos de control de la exactitud se emplearon - muestras comerciales con valores previamente conocidos utilizándose el PRECILIP como referencia para valores ligeramente bajos o normales y el PRECILIP E.L para valores altos. El coeficiente de variación intra-análisis fue menor del 4%.

CUANTIFICACION DE TRIGLICERIDOS.

Los triglicéridos se determinaron por el método enzimático modificado de Wählefeld (71). Material de prueba: Suero, plasma con heparina o EDTA.

REACTIVOS:

	<u>CONTENIDO</u>	<u>CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES</u>
	Solución amortiguadora	
1	Solución amortiguadora de fosfato	20 mmol/pli 7
	Sulfato de magnesio	4 mmol/l
	dodecilsulfato sódico	0.35 mmol/l
	NADH/	10 mg/ml/l
2	ATP/	22 mmol/l
	PEP/	18 mmol/l
	LDH/	≅ 300 U/ml
3	PK/	≅ 50 U/ml
	Lipasa/	≅ 4000 U/ml
	Esterasa/	≅ 30 U/ml
4	GK	≅ 150 U/ml

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

Es una determinación enzimática de los triglicéridos después de la hidrólisis enzimática:

Triglicéridos $\xrightarrow{\text{lispasa/esterasa}}$ glicerol + ácidos grasos.

Glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{GK}}$ glicerol-3-fosfato + ADP.

ADP + PEP $\xrightarrow{\text{PK}}$ piruvato + ATP.

Piruvato + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ L-Lactato + NAD⁺.

Método de determinación:

Longitud de onda: Hg 365 nm, 340 nm, o Hg 334 nm.

Micro o semimicrocubeta: 1 cm de paso de luz

Temperatura de incubación: 20-25° C.

Medida frente al aire o agua destilada (Disminución de Extinción).

Pipetear en recipientes de reacción			
	Blanco	Prueba	Prueba
Mezcla de reacción (20 -25°C)	2,50 ml	-	
Material de prueba	0,05 ml	-	
Mezclar bien			
Pipetear del blanco prueba	-	1,00 ml	
Suspensión 4	-	0,005 ml	
Mezclar y dejar estar aproximadamente 10 min a 25°C. Leer las extinciones de la prueba y del blanco prueba. $E_{BP} - E_{prueba} - E_{BR} = E.$			
El límite de dilución corresponde a la siguiente diferencia de extinción:			
Hg 365 nm	$\Delta E = 0,400$		
Hg 334/340 nm	$\Delta E = 0,800$		
ó a una concentración de aproximadamente 550 mg/100 ml.			
Cálculo			
La concentración (C) de los triglicéridos se calcula según:			
Longitud de onda	Hg 365 nm	340 nm	Hg 334 nm
c(mg/100 ml)	$1318 \times \Delta E$	$711 \times \Delta E$	$725 \times \Delta E$
c(mmol/l).	$15,1 \times \Delta E$	$8,13 \times \Delta E$	$8,28 \times \Delta E$

CONTROL DE CALIDAD:

Se utilizó el PRECILIP como referencia para valores ligeramente bajos o normales y el PRECILIP E.L. para valores altos. El coeficiente de variación intra-análisis fue menor del 4%.

CUANTIFICACION DE FOSFOLIPIDOS.

Los fosfolípidos se determinaron por el método colorimétrico de la reacción Molibdato/vanadato (75).

Material de Prueba:

Suero, plasma con heparina o EDTA.

	<u>CONTENIDO</u>	<u>CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES</u>
	Vanadato	
1	Vanadato amónico	21 nmol/l
	Acido nítrico	0.28 N
	Molibdato	
2	Molibdato amónico	40 nmol/l
	Acido sulfúrico	2.5 N
	Standard	
3	Fósforo	0.5 mg/100 ml ó 161 μ mol/l
	Standard	
4	Fósforo	5 mg/100 ml ó 1.61 mmol/l

Adicionalmente: Acido tricloroacético 1,2 mol/l.

PREPARACION DE LAS PRUEBAS

DESPROTEINIZACION

Pipetear en un tubo de centrifuga de 10 ml	
Prueba	0.2 ml
Acido tricloroacético (1,2mol/l)	2.0 ml
<p>Mezclar bien, dejar estar 10 minutos a 20-25°C y centrifugar 10 minutos. Verter el sobrenadante claro en un tubo de ensayo seco y emplear 1.0 ml para la determinación.</p>	

METODO DE DETERMINACION

Pipetear en tubos de ensayo		
	Blanco	Prueba
Sobrenadante de la desproteínización.	-	1.0 ml
Acido tricloroacético (1.2 mol/l).	1.0 ml	-
Solución 1	1.0 ml	1.0 ml
Solución 2	1.0 ml	1.0 ml
o en lugar de las soluciones 1 y 2 emplear la mezcla 5.	2.0 ml	2.0 ml
<p>Mezclar y al cabo de 10 minutos medir la extinción de la prueba (E_{prueba}) frente al blanco.</p>		

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

En solución de ácido nítrico, el fosfato forma un com
plejo coloreado con molibdato y vanadato.

METODO DE DETERMINACION:

Longitud de onda: 405 nm (400-420 nm)

Cubeta: 1 cm de paso de luz.

Temperatura: 20-25° C.

Medida frente a un valor en blanco.

CALCULO

La concentración (c) del fósforo inorgánico de la determinación sin standard (405 nm) se calcula según:

Material de Prueba.	mg/100 ml	nmol/l	g/l
Suero Plasma	$c=42.2 \times E_{\text{prueba}}$	$c=13.6 \times E_{\text{prueba}}$	-
Orina	-	$c=27.3 \times E_{\text{prueba}}$	$c=8.45 \times E_{\text{prueba}}$

La concentración (c) del fósforo inorgánico de la determinación con standard (400-420 nm) se calcula según:

Material de Prueba.	mg/100 ml	nmol/l	g/l
Suero Plasma	$c=5,5 \times \frac{E_{\text{prueba}}}{E_{\text{standard}}}$	$c=1,8 \times \frac{E_{\text{prueba}}}{E_{\text{standard}}}$	-
Orina	-	$c=35,5 \times \frac{E_{\text{prueba}}}{E_{\text{standard}}}$	$c=1,1 \times \frac{E_{\text{prueba}}}{E_{\text{standard}}}$

Control de Calidad:

Igualmente se emplearon las muestras comerciales previamente mencionadas para el control de exactitud, siendo el coeficiente de variación intra-análisis menor del 4%.

CONTROL DE CALIDAD:

El porcentaje de recuperación de los lípidos en las diferentes fracciones (LMBD, LBD y LAD) comparadas con las del suero total fue del 80 a 100%. Esto se tomó como control de calidad a lo largo de todo el estudio.

Todos los procedimientos analíticos cumplieron con los criterios de control de calidad, siendo el coeficiente de variación menor del 4% del 10% intra- e inter-análisis respectivamente.

ANALISIS ESTADISTICO:

El significado estadístico de las diferencias entre los valores obtenidos antes y en el tercer mes posterior a la administración de los anticonceptivos orales fue evaluado por la prueba de la t pareada. Las diferencias entre los valores de lípidos y lipoproteínas en fase proliferativa y en fase lútea fueron valoradas por la prueba de t no-pareada de student.

IV RESULTADOS

Variaciones de Lípidos y Lipoproteínas durante el Ciclo Menstrual:

Como se muestra en las tablas II y III no hubo diferencias significativas en las características que a continuación se mencionan entre las participantes del grupo de la fase proliferativa y las del grupo de la fase lútea: Edad (25 ± 4.7 años versus 23.8 ± 4.1 años), talla (156 ± 0.0 cms versus 154 ± 0.0 cms), peso (53.1 ± 5.6 kgs versus 54.5 ± 5.7 kgs), índice de Quetelet- (21.6 ± 1.7 kgs/cms² versus 22.7 ± 2.3 kg/cm²), lo cual indica que la población estudiada fue homogénea y además indica el adecuado estado de salud de cada una de las participantes en el estudio.

En la Fig. 4 se presentan los valores promedios (\pm D.E.) de los lípidos en suero durante la fase folicular y la fase lútea expresados en mmol/l y normalizados por m² de superficie corporal según la fórmula de Boyd. Como puede observarse no hubo diferencias estadísticamente-significativas en el colesterol total en el suero entre la fase proliferativa y entre la fase lútea ($p > 0.10$) como tampoco hubo diferencias significativas en los triglicéridos del suero. Los fosfolípidos del suero se observaron disminuidos en una forma altamente signifi-

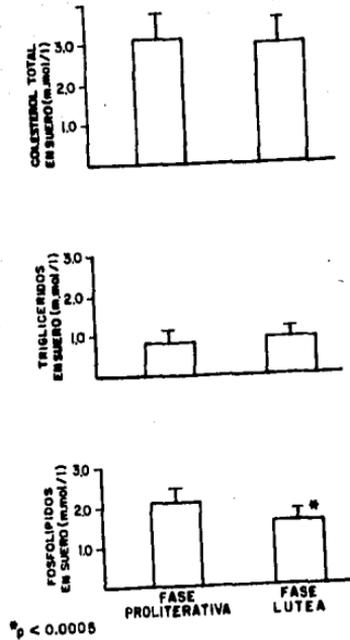


Figura 4: Variaciones de los lípidos durante el ciclo menstrual expresados en mmol/l/metro cuadrado de superficie corporal. No existieron diferencias en el colesterol total ni en las concentraciones de triglicéridos en el suero de mujeres durante el ciclo menstrual. Las concentraciones de fosfolípidos en suero se observaron disminuidas durante la fase lútea ($p < 0.0005$).

cativa durante la fase lútea cuando se compararon con la fase proliferativa (1.67 ± 0.29 mmol/litro versus 2.15 ± 0.44 mmol/l); $p < 0,0005$.

Las variaciones del contenido de colesterol en las distintas fracciones de lipoproteínas (LAD, LBD y LMBD) durante el ciclo menstrual se representan en la figura 5. Como se puede observar, LBD-colesterol en forma similar a lo que ocurrió con el colesterol total en suero, disminuyó en la fase lútea comparada a la fase proliferativa, siendo esta disminución muy significativa ($p < 0.025$). Aunque LAD-colesterol disminuyó en la fase lútea (0.98 ± 0.39 mmol/l versus 1.06 ± 0.33 mmol/l) esta disminución no fue significativa ($p < 0.30$).

La LBD-fosfolípidos y LAD-fosfolípidos en forma semejante disminuyeron durante la fase lútea resultando ambas significativas ($p < 0.01$ y $p < 0.05$ respectivamente) cuando se comparó con la fase proliferativa (Tabla IV).

Efecto de Hormonales Combinados en el patrón en Suero de las diferentes fracciones de lípidos y lipoproteínas.

Los valores basales de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos en suero así como su contenido en las diferentes fracciones de lipoproteínas (LBD, LAD y LMBD) en las usuarias participantes en este estudio se muestran en la Tabla V.

TABLA. IV

VALORES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEINAS EN EL SUERO DURANTE EL CICLO MENSTRUAL.

FASE DEL CICLO	Colesterol total*				Fosfolípidos*				Triglicéridos*			
	SUERO	LMBD	LBD	LAD	SUERO	LMBD	LBD	LAD	SUERO	LMBD	LBD	LAD
PROLIFERATIVA.	3,34 ±	0.22 ±	1.89 ±	1.06 ±	2.15 ±	0.17 ±	0.64 ±	1.07 ±	0.74 ±	0.36 ±	0.22 ±	0.2 ±
	0.6	0.09	0.56	0.33	0.44	0.09	0.21	0.36	0.28	0.15	0.16	0.2
FASE LUTEA	3.0 ±	0.24 ±	1.58 ±	0.98 ±	1.67 ±	0.13 ±	0.51 ±	0.9 ±	0.77 ±	0.35 ±	0.21 ±	0.13 ±
	0.6	0.15	0.45	0.39	0.29	0.09	0.13***	0.18**	0.33	0.19	0.09	0.05

Los valores son expresados por mm^2/m^2 superficie corporal.

*Los valores son expresados por $\text{mmol}/\text{l}/\text{m}^2$ superficie corporal.

**p < 0.01

***p < 0.05

Como puede observarse todos los valores basales se encuentran dentro de los límites normales.

No hubo modificaciones significativas en términos de triglicéridos y fosfolípidos en el suero ni en su contenido en las diferentes lipoproteínas de mujeres inducidas en los tres grupos estudiados. (Tabla V).

Se observó una disminución leve aunque significativa en LBD-colesterol en las participantes del grupo III después de la administración de 1 mg de acetato de no retindrona combinada con 50 microgramos de etinilestradiol durante 3 meses ($p < 0.05$). El valor individual más bajo de LBD-colesterol en este grupo durante el seguimiento fue de 1.5 mmol/l. El rango normal de nuestro laboratorio de LBD-colesterol es de 2.1 ± 1.1 mmol/l.

LAD-colesterol se mantuvo en niveles bajos ($p < 0.035$) en las participantes del grupo I después de tres meses de administración de 250 microgramos de levonorgestrel combinado con 50 microgramos de etinil estradiol (Tabla V y Fig. 6). El valor individual de LAD-colesterol en este grupo después del seguimiento fue de 0.8 mmol/l; el rango normal de nuestro laboratorio de LAD colesterol es de 1.0 ± 0.7 mmol/l.

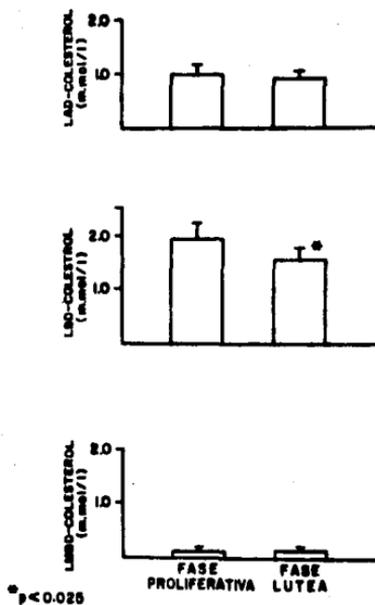


Figura 5. Variaciones del contenido de colesterol en las diferentes fracciones de lipoproteínas (LAD, LBD y LMBD) del suero de mujeres durante el ciclo menstrual. Los valores son expresados en mmol/l/metro cuadrado de superficie corporal. LBD-colesterol disminuyó en la fase lútea cuando se comparó con la fase proliferativa del ciclo menstrual ($p < 0.025$). LAD-colesterol fue ligeramente menor durante la fase lútea con un valor no significativo de $p < 0.30$.

TABLA V

EFFECTOS DE LOS DIFERENTES ANTICONCEPTIVOS ORALES SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS.

		Grupo I***		Grupo II		Grupo III	
		Basal	3er. mes	Basal	3er. mes	Basal	3er. mes
Colesterol Total	Suero	4.7 ± 1.1*	4.6 ± 0.7	5.04 ± 0.9	4.8 ± 1.2	4.3 ± 0.8	4.2 ± 1.01
	LBD	2.4 ± 0.7	2.7 ± 0.6	2.6 ± 0.6	2.6 ± 0.4	2.5 ± 0.7	2.3 ± 0.8*
	LAD	1.6 ± 0.5	1.3 ± 1.4**	1.8 ± 0.4	0.3 ± 0.2	1.1 ± 0.15	1.3 ± 0.2
	LMBD	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1
Triglicéridos.	SUERO	1.2 ± 0.6	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.4	0.9 ± 0.1	1.2 ± 0.6
	LBD	0.3 ± 0.1	2.7 ± 0.7	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.2' ± 0.0	0.3 ± 0.1
	LAD	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.6	0.2 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1
	LMBD	0.6 ± 0.4	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.3
Fosfolípidos	Suero	2.5 ± 0.4	2.5 ± 0.7	2.8 ± 0.3	3.1 ± 0.6	2.3 ± 0.1	2.5 ± 0.3
	LBD	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.4	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1
	LAD	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.2	0.9 ± 0.7	1.2 ± 0.0	1.2 ± 0.0
	LMBD	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.5	0.6 ± 0.5	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2

* p < 0.05.

** p < 0.025.

*** (X ± DE)

± mmol/l.

En el grupo II se observó una leve disminución aunque no fue significativa en LAD-colesterol después de la administración de 150 microgramos de levonorgestrel - combinado con 30 microgramos de etinilestradiol ($p < 0.5$) Figura 6.

En el grupo III los niveles de LAD-colesterol no mostraron diferencias significativas ($p < 0.49$) sin embargo, las concentraciones en suero fueron ligeramente más elevadas en comparación con las observadas al inicio del estudio.

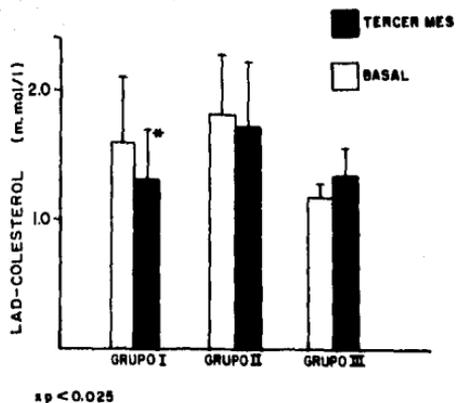


Figura 6 : Efecto de los anticonceptivos orales sobre LAD-colesterol después de tres meses de uso. LAD-colesterol se mantuvo en niveles bajos ($p < 0.025$) en las participantes del grupo I después de tres meses de administración de 250 ugrs de levonorgestrel combinado con 50 ugrs de etinilestradiol.

DISCUSION

Los resultados de este trabajo demuestran las fluctuaciones que existen en los lípidos y lipoproteínas en el suero de mujeres normales durante el ciclo menstrual.

Esto implica que es de gran importancia el momento de la toma de muestra sanguínea para la interpretación de las concentraciones en suero de lípidos y lipoproteínas en mujeres que no emplean anticonceptivos hormonales. Estas variaciones de lipoproteínas confirman observaciones previas de la disminución en LBD-colesterol así como en apo-B durante la fase lútea en mujeres con ciclos menstruales normales (33).

Es necesario mencionar algunas diferencias entre los resultados obtenidos en algunos estudios previos y los resultados del presente trabajo. Demacker y colaboradores (15) investigando las fluctuaciones de lípidos y lipoproteínas durante el ciclo menstrual normal en diez mujeres sin antecedentes del uso de ningún método para el control de la fertilidad demostraron que las concentraciones totales de colesterol, LBD-colesterol y LAD-colesterol no se modificaron significativamente. En nuestro estudio hemos encontrado una disminución significativa de LBD-colesterol en la fase lútea, así como de los fosfolípidos en el suero, lo cual está de acuerdo

con las observaciones de Kim y Kalkhoff (33). Estos mismos investigadores demostraron también la disminución significativa de las concentraciones de colesterol total en suero durante la fase lútea, hallazgo que no pudimos encontrar en nuestro trabajo.

Estas diferencias en los resultados pueden por lo menos explicarse a la gran variabilidad en las concentraciones de lípidos en mujeres normales en edad reproductiva así como en la metodología empleada.

A este respecto es interesante señalar los cambios hormonales que ocurren durante el ciclo menstrual normal, los cuales podrían ser los responsables de las fluctuaciones observadas de lípidos y lipoproteínas informadas previamente por diferentes grupos de investigadores (15, 33). Se ha señalado que la disminución de LDL-colesterol durante la fase lútea es secundaria a la elevación de 17 beta estradiol en la fase ovulatoria. Es un hecho bien conocido el importante efecto supresor de los estrógenos sobre el colesterol y el efecto de su administración sobre el perfil de las lipoproteínas en el suero de las mujeres oforectomizadas o pos-menopáusicas (33). El efecto de los estrógenos sobre el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, así como el mecanismo responsable de los cambios observados durante el ciclo

menstrual podrían estar relacionados al efecto estrogénico así como a su metabolismo hepático. Aunque no es posible excluir otras influencias hormonales que alteren el metabolismo de lípidos durante el ciclo menstrual es poco factible que progesterona tenga algún efecto sobre (LBD)-colesterol. A este respecto diversos estudios (37) realizados en mujeres ooforectomizadas recibiendo tratamiento con progesterona no han demostrado cambios significativos sobre el perfil de lípidos en el suero, sin embargo, otros investigadores han podido demostrar una reducción significativa en las concentraciones de triglicéridos totales en el suero sin ningún cambio en las concentraciones de colesterol total. Esta acción sobre las concentraciones de los triglicéridos se ha explicado en base a un efecto antagonista de la progesterona sobre la síntesis de triglicéridos a nivel hepático el cual es estimulado por los estrógenos contribuyendo también otros factores como el incremento en la enzima lipasa lipoproteica (37).

Los efectos sobre las concentraciones de lípidos y lipoproteínas atribuidos a la progesterona han sido derivados de modelos experimentales en el humano (mujeres posmenopáusicas) utilizando compuestos sintéticos con actividad progestacional; existiendo poca información sobre aquellos obtenidos utilizando progesterona natural.

En nuestro estudio a diferencia de lo informado en la literatura, las concentraciones de LAD-colesterol no mostraron cambios significativos durante las diferentes fases del ciclo menstrual estudiadas. Estas diferencias bien podrían explicarse en base al número de la muestra y a la metodología empleada para la cuantificación de las diferentes fracciones de lipoproteínas incluyendo los parámetros utilizados para la normalización de cada valor individual.

La demostración previa del efecto del estradiol sobre las concentraciones en suero de LAD-colesterol se ha correlacionado en diversos estudios con la baja frecuencia en la formación de ateromas en mujeres en edad reproductiva. A este respecto se decidió como objetivo fundamental en este estudio, investigar los cambios producidos en los lípidos y lipoproteínas en suero de mujeres bajo control de la fertilidad empleando preparados comerciales disponibles en nuestro país.

De los resultados obtenidos con la utilización de diferentes combinaciones de estrógenos y progestinas sobre el metabolismo de lípidos y lipoproteínas podemos hacer las siguientes consideraciones: En el presente trabajo se confirmó la disminución de las concentraciones en suero de LAD-colesterol secundarias al uso de levonorges -

gestrel a dos diferentes dosis utilizadas (150 y 250 ugrs). Estos resultados están de acuerdo a informes previos en los cuales se ha demostrado que el componente estrogénico en las formulaciones anticonceptivas no antagonizan el efecto producido por la progestina sintética (9, 46) a diferentes dosis administradas. Se ha sugerido (37) que la disminución en LAD-colesterol por preparados orales conteniendo levonorgestrel se acompaña de un incremento significativo en la actividad de la lipasa hepática liberada por la heparina plasmática, una enzima que ha sido asociada al metabolismo de LAD en especial a la subfracción LAD₂. Estos cambios que ocurren tanto en LAD₂ y en la actividad de la lipasa hepática secundarios al efecto progestacional son opuestos a aquellos que ocurren durante el tratamiento estrogénico (46).

Para el caso de LBD-colesterol, la utilización de levonorgestrel a dos diferentes dosis administradas de manera combinada con etinilestradiol no mostró diferencias significativas sin embargo, fue posible observar un leve incremento de LBD en el grupo de mujeres recibiendo 250 ugrs de levonorgestrel (2.46 ± 0.78 mmol/l basal a 2.79 ± 0.69 mmol/l tres meses después). Estos resultados confirmaron estudios previos en los cuales la administración de compuestos progestacionales resulta en la

elevación de las concentraciones circulantes de LBD. Estos hallazgos podrían en parte explicar el mecanismo a través del cual los anticonceptivos orales se encuentran parcialmente relacionados a la presencia de fenómenos tromboembólicos. Sin embargo, los cambios observados en nuestro estudio en las diferentes fracciones de lipoproteínas secundarios al uso de anticonceptivos orales no se correlacionan con aquellos obtenidos en enfermedades cardiovasculares secundarias a una alteración en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas. (10,21,41).

Los resultados obtenidos en el grupo de mujeres que recibieron acetato de noretindrona (1 mgr) asociado de manera combinada con etinilestradiol (0.05 mg) durante tres meses consecutivos ocasionó una disminución significativa en las concentraciones circulantes de LBD-colesterol. Este hallazgo está de acuerdo con observaciones previas tanto en el humano como en animales de experimentación, las cuales sugieren propiedades estrogénicas a la molécula de noretindrona. Sin embargo, no se puede descartar al componente estrogénico de la formulación anticonceptiva como el responsable de este efecto. Nuestros resultados son contradictorios a los estudios informados por otros autores en mujeres posmenopáusicas o bien en condiciones clínicas caracteriza

das por la pérdida de la función ovárica (oforectomía).

Estas diferencias podrían también explicarse en base a la metodología empleada para la determinación de las diferentes fracciones de lipoproteínas así como por la duración de la exposición a los preparados hormonales.

Los hallazgos obtenidos en nuestro estudio de los efectos del acetato de noretindrona sobre las concentraciones circulantes de LBD-colesterol se asemejan a aquellos producidos por esteroides con actividad estrogénica. A este respecto estudios recientes (39, 40, 55, y 56) sugieren que la noretindrona o sus metabolitos ejercen algunos de sus efectos a nivel del sistema nervioso central vía un mecanismo de acción estrogénico (40). En apoyo a estas observaciones se ha demostrado la biotransformación de noretindrona a otros metabolitos con potentes propiedades estrogénicas (55).

La utilización de los derivados tetrahidro de noretisterona (3 beta 5 alfa noretindrona; 3 alfa 5 beta noretindrona; 3 alfa 5 beta noretindrona y 3 beta 5 beta noretindrona) en estudios de unión a receptores intracelulares han demostrado que el metabolito 3 beta 5 alfa reducido de la noretindrona compete eficientemente con (³H)-estradiol por la unión a su receptor específico en útero de la rata inmadura.

Estos resultados explican en parte los efectos estrogé
nicos de noretindrona sobre el metabolismo de lípidos
y lipoproteínas observadas en el presente estudio y su
gieren un mecanismo de acción similar a los encontra
dos utilizando otros parámetros de valoración como el
índice litogénico de mujeres que reciben esta progesti
na.

En apoyo a nuestras observaciones se encuentra el es
tudio de Lithell (46) en el cual la utilización de ace
tato de noretindrona y etinilestradiol no resultó en
elevación significativa de las concentraciones circulan
tes de LBD-colesterol. Las discrepancias de los resul
tados en el presente estudio con los señalados anteriormente in
dican la falta de información adecuada de los efectos
secundarios de preparaciones hormonales utilizados en
anticoncepción sobre el metabolismo de lípidos ; lipo
proteínas surgiendo la necesidad imperiosa de realizar
estudios bien controlados en un grupo homogéneo de la
población valorándose los efectos producidos por las
preparaciones hormonales de mayor uso en la entidad
geográfica a estudiar.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de los anticonceptivos orales conteniendo etinil estradiol combinado con dos progestinas derivadas de la 19 nortestosterona (levonorgestrel y acetato de noretindrona) sobre el metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas. El levonorgestrel fue utilizado en dos diferentes dosis, 150 y 250 ugrs y el acetato de noretindrona en dosis de 1 mgr.

Así mismo se investigó la influencia de los cambios hormonales durante el ciclo menstrual normal sobre los mismos patrones lipoproteicos. Los resultados mostraron que en la fase lútea del ciclo menstrual hubo disminución de las concentraciones de LBD-colesterol, LBD-fosfolípidos y LAD-fosfolípidos junto con una disminución en las concentraciones de los fosfolípidos totales. Las concentraciones del colesterol total en suero y de los triglicéridos no se modificaron cuando se comparan la fase proliferativa y la fase lútea de ciclos menstruales normales.

Con respecto al uso de anticonceptivos orales, aquellos que contenían levonorgestrel provocaron disminución en las concentraciones del suero de LAD-colesterol la cual no fue dependiente de la dosis. El anticonceptivo que contenía 1 mgr de acetato de noretindrona combinado con

0.05 mg de etinilestradiol causó disminución en las concentraciones de LBD-colesterol, lo cual podría reflejar un efecto estrogénico de este derivado de la 19 -nortestosterona o bien de alguno de sus metabolitos reducidos en el anillo A. Finalmente se concluye que no sólo se debe tener precaución para escoger la dosis y la combinación de estrógenos/progestina, sino que se debe tener en cuenta otros factores que de por si influyen en el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas como sería la entidad geográfica a estudiar. Además se menciona que es importante seleccionar el día de la toma de muestra sanguínea para las determinaciones de los lípidos y lipoproteínas, puesto que éstas fluctúan en las diferentes fases del ciclo menstrual normal.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

-59-

REFERENCIAS

1. Ahren, T.; Victor, A.; Lithell, H.; Vessby, B.; Jackanicz, T.M. and Johansson, E.D.B.: Ovarian function, bleeding control, and serum lipoproteins in women using contraceptive vaginal rings releasing five different progestins. Contraception 28:315, 1983.
2. Ahren, T.; Lithell, H.; Victor, A.; Vessby, B.; and Johansson, E.D.B.: Comparison of the metabolic effects of two hormonal contraceptive methods: An oral formulation and a vaginal, ring II. Serum lipoproteins and apolipoproteins. Contraception, 24:451, 1981.
3. Alaupovic, P., Lee, D.M. and McConathy, W.J.: Studies on the composition and structure of plasma lipoproteins: Distribution of lipoproteins familiar is major density classes of normal human plasma lipoproteins. Biochim. Biophys. Acta, 260: 698, 1972.
4. Applebaum, D.M.; Goldberg, A.P.; Pykalisto, O.J.; Brunzell, J.D.; and Hazzard, W.R. Effect of estrogen on post-heparin lipolytic activity: Selective decline in hepatic triglyceride lipase. J. Clin. Invest., 59:601, 1977.
5. Baran, D.T.; Whyte, M.P.; Haussler, M.R.; Deftos, L.J.; Slatopolsky, E.; and Avioli, L.V. Effect of the menstrual cycle on calcium-regulating hormones in the normal young woman. J. Clin. Endocrinol. Metab., 50:377, 1980.
6. Bierman, E.L.; and Glomset, J.A. Disorders of lipid metabolism; in Textbook of Endocrinology, 5th ed., edited by Williams, R.H.; pag 876, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1981.
7. Bottiger, L.E., Goman, G., Eklund, G., et al.: oral contraceptive and thromboembolic disease: effects of lowering oestrogen content. Lancet, 1:1097, 1980.

8. Bisgaier, C.L., Flickman, R.M. Intestinal synthesis, secretion and transport of lipoproteins. *Ann. Rev. Physiol.* 45: 625, 1983.
9. Bradley, D.D., Wingerd, J., Pettiti, D. et al. Serum HDL-cholesterol in women using oral contraceptives, estrogens and progestins. *N. Engl. J. Med.* 299:17, 1978.
10. Brown, M.S., Goldteins, J.L. The hyperlipoproteinemias and other disorders of lipid metabolism, in *Harrison's Principles of internal medicine*, ninth ed., edited by Isselbacher, K.J., Adams, R.D., Braunwald, E., Petersdorf, R.G., and Wilson, J. D., pag. 507, Mc Graw-Hill Kogakusha, Tokyo, Japan 1980.
11. Castelli, W.B., Doyle, J.T., Gordon, T. et al.: HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. *Circulation* 55:767, 1977.
12. Chan Lawrance: Hormonal control of apolipoprotein synthesis. *Ann Rev. Physiol.* 45:615, 1983.
13. Chosksi, S.A., and Sane, A.S. Effect of menstrual stress on serum lipid levels. *Experientia* 37:58, 1981.
14. Crona, N., Enk, L., Samsioe, G., Silfverstolpe, G., and Skryten, A. High-dose depot-medroxyprogesterone acetate (DMPA) - effects on lipid and lipoprotein metabolism. *Europ. J. Obstet Gynecol Reprod. Biol.* 16:97, 1983.
15. Demacker, P.N.M., Schade, R.W.B., Stalenhoef, A.F.H., Stuyt, P.M.J., Laar, A.V. Influence of contraceptive pill and menstrual cycle on serum lipids and high-density lipoprotein cholesterol concentrations. *British Medical Journal*, 284:1213, 1982.
16. Edgren, R.A., Jones, R.C., Peterson, D.L. A biological classification of progestational agents. *Fertil. Steril.*, 18:238 1967.
17. Ehnholm, C., Mattunen, K., Pietinen, P. et al: Effect of diet on serum lipoprotein in a population with a high risk of coronary heart disease. *N. Eng. J. Med.*, 307:850, 1982.

18. Fahraeus, L., and Walentin, L. High density lipoprotein sub fractions during oral and cutaneous administration of 17- beta estradiol to menopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 56:797, 1983.
19. Farish, E., Fletcher, C.D., Hart, D.M., Kitchener, H., and Sharpe, G.L.M. A long-term study of the effects of norethisterone on lipoprotein metabolism in menopausal women. *Clin. Chemica Acta*, 132:193, 1983.
20. Fisher Waldo, R. Heterogeneity of plasma low density lipoproteins manifestations of the physiologic phenomenon in man. *Metabolism*, 32:283, 1983.
21. Frederickson. Goldstein and Brown: The familial hyperlipoproteinemias in the metabolic basis of inherited disease. Stanbury Wyngaarden, Frederickson 4th ed. Mc Graw Hill, Ca pítulo 30, pag. 604, 1978.
22. Garrow, J. Weight penalties. *Br. Med. J.* 2:1171, 1979.
23. Glomset, J.A. The metabolic role of lecithin: Cholesterol acyltransferase; perspectives from pathologic. *Adv. Lipid Res.* 11:1, 1973.
24. Gordon, T., Castelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B., Dawber, T. High density lipoprotein a protective factor against coronary heart disease. The framingham study. *The American Journal of medicine*, 62:707, 1977.
25. Goldstein, J.L., Anderson, R.G.W. and Brown, H.S. *Nature*, 279:679, 1979.
26. Gustafson, A., Svanborg, A. Gonadal steroid effects on plasma lipoprotein and individual phospholipids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35:203, 1972.
27. Hennekens, C.H., Denis, A.E., Castelli, W.P., et al. Oral contraceptive use and fasting triglyceride, plasma cholesterol and HDL cholesterol. *Circulation* 60:486, 1979.

28. Herbert, P.N., Gotto, A.M., and Frederickson, D.S. Familial lipoprotein deficiency in the metabolic basis of inherited disease 4th edited by Stanbury, J.B., Wigaarden, D.S., Frederickson. pag. 545, Mc Graw-Hill, New York, 1978.
29. Hulley, S.B., Rosenman, R.H., et al. Epidemiology as a guide to clinical decisions: The association between triglyceride and coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 302:1383, 1980.
30. Hulley, S.B., Lo, B. Choice and use of blood lipid test. *Arch. Intern. Med.* 143:667, 1983.
31. Kalkhoff, R.K. Metabolic effects of progesterone. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142:735, 1982.
32. Kern, F., Everson, G.T., De Mark, B., McKinley, C., et. al. Biliary lipids, bile acids, and gallbladder function in the human female. Effect of pregnancy and the ovulatory cycle. *J. Clin. Invest.* 68:1229, 1981.
33. Kim, H-J., and Kalkhoff, R.K. Changes in lipoprotein composition during the menstrual cycle. *Metabolism*, 28:563, 1979.
34. Knopp, R.H., Walden, C.E., Wahl, P.W., Hoover, J.J. Effects of oral contraceptive on lipoprotein triglyceride and cholesterol: Relationships to estrogen and progestin potency. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142:725, 1982.
35. Knopp, R.H., Walden, C.E., Wahl, P.W., Hoover, J.J., Warnick, G.R., Albers, J.J., Ogilvie, J.T., and Hazzaerd, W.R. Oral contraceptive and post-menopausal estrogen effects on lipoprotein triglyceride and cholesterol in an adult female population: Relationships to estrogen and progestin potency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 53:1123, 1981.
36. Kostner, G. Studies on the cofactor requirement for lecithin: Cholesterol acyltransferase. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 33 Suppl. 137:19, 1974.
37. Krauss, R.M. Effects of progestational agents on serum lipids and lipoproteins. *The J. Reprod. Med. Suppl.* 27:503, 1982.

38. Lahiri, T., Chowdhury, J.R. Lipid patterns in vaginal cells exfoliated from different physiologic conditions. *Acta Cytologica*. 25:572, 1981.
39. Larrea, F., Lince-Campillo, M., y Pérez-Palacios, G. Mecanismo de transporte e interacción de noretisterona con proteínas plasmáticas. *Rev. Invest. Clin. (Mex.)* 35:189, 1983.
40. Larrea, F., Moctezuma, O., and Pérez-Palacios, G. Estrogen-like effects of norethisterone on the hypothalamic pituitary unit of ovariectomized rats. *J. Steroid Biochem.* (in press).
41. Larsson-Cohn, U., Farhæus, L., Walentin, L., Zador, G. Lipoprotein changes may be minimized by proper composition of a combined oral contraceptive. *Fertil Steril.* 35:172, 1981.
42. Larsson-Cohn, U., Berlin, R., and Vikrot, O. Effects of combined low-dose gestagen oral contraceptive on plasma lipids; including individual phospholipids. *Acta Endocrinologica* 63:717, 1970.
43. Laskarzewski, P.M., Morrison, J.A., Gutai, J., Orchard, T., Khoury, P.R., and Glueck, C.J. High and low density lipoprotein cholesterol in adolescent boys; relationships with endogenous testosterone, estradiol and Quetelet index. *Metabolism* 32:262, 1983.
44. Lennon, D.L.F., Stratman, F.W., Shrago, E., Nagl, F.J., Hanson, P.G. et al. Total cholesterol and HDL-cholesterol changes during acute, moderate-intensity exercise in men and women. *Metabolism*, 32:244, 1983.
45. Levy, R.I. Cholesterol, lipoprotein, apolipoproteins, and heart disease: Present status and future prospect. *Clinical Chem.*, 27:653, 1981.
46. Lithell, H., Ahren, T., Odland, V. et al. Effects of progestins on lipoproteins patterns. In *progesterone and progestins*, edited by Bardin, C.W., Milgrom, E., and Pierre Mauvais-Jarvis. pag. 421, Raven Press, New York, 1983.

47. Machebouef, M. Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma sanguins; étude physico-chimique de la fraction protéidique la plus riche en phospholipides et en stérides. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 11:485, 1929.
48. Marcel, Y.L., Vezina, C. Lecithin, cholesterol acyltransferase of human plasma: Role of chylomicrons, very low, and high density lipoproteins in the reaction. *J. Biol. Chem.*, 248:8254, 1973.
49. Meade, T.W., Greenberg, G., Thompson, S.G. Progestogens and cardiovascular reactions associated with oral contraceptives and a comparison of the safety of 50-and 30 ugrs oestrogen preparations. *Brit. Med. J.* May 10: 1157, 1980.
50. Miller, G.J., Miller, N.E. Plasma HDL concentration and development of ischaemic heart disease. *Lancet*, 1:16, 1975.
51. Miller, N.E., Forde, O.H., et al. The Tromso heart study: HDL and coronary heart disease. A prospective case-control study. *Lancet*, 1:965, 1977.
52. Mishkel, M.A. Lipids disorders: An approach to the therapy. *Modern Med of Canada Cardio. Disease.* 37 Suppl:33, 1982.
53. Nilsson, C.G., Kostianen, E., and Ehnholm, C. Serum lipids and high-density-lipoprotein cholesterol in women on long-term sustained low-dose IUD treatment with levonorgestrel. *Int. J. Fertil.* 26:135, 1981.
54. Odland, V., Weiner, E., Victor, A., and Johansson, E.D.B. Effects on sex hormone binding globulin of different oral contraceptives containing norethisterone and lynestrenol. *British Journal of Obstet. Gynecol.*, 87:416, 1980.
55. Pérez-Palacios, G., Fernández Aparicio, M.A., Medina, M., et al. On the mechanism of action of progestins. *Acta Endocrinol.*, 97:320, 1981.
56. Pérez-Palacios, G., Chávez, B., Larrea, F., et al. Mechanism of action of contraceptive synthetic progestins. *J. Steroids Biochem.*, 15:125, 1981.

57. Peter, F., and Strune, G. Relationship of triglyceride and cholesterol concentrations with HDL-cholesterol and risk factor values in serum. *Clin. Chem. Acta*, 122:403, 1982.
58. Phillips, N.R., Havel, R.J., Kane, J.P. Levels and interrelationship of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides. *Arteriosclerosis*, 1:13, 1981.
59. Röschlau, P.E., Bernt, E., and Grubec. 9th Int. Congr. on clin. Chemistry, Toronto 1975, Abst. No. 1. Trinder; *Ann. Clin. Biochem.*, 6:24, 1969.
60. Rhoads, G.G., Christian, M.P.H., Gulbrandsen, L., and Kagan, A. Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of nawaii japanese men. *N. Engl. J. Med.*, 294:293, 1976.
61. Sane, A.S., and Kukretti, S.D. Effect of preoperative stress on serum cholesterol level in humans. *Experientia*, 34:213, 1978.
62. Schonfeld, G. Hormonal control of lipoprotein metabolism. In *Endocrinology*, Vol.3, 2th ed. edited by DeGroot, L.J., Cahill, G.F., Odell, W.D., Martin, L., Potts, J.T., Nelson, D.H., Steinberger, E., Winegrad, A.I., pag. 1855, Grune & Stratton INC, New York, N.Y., 1979.
63. Silverstolpe, G., Gustafson, A., Samsioe, et al. Lipid metabolic studies in oophorectomized women. Effects of three different progestogens. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 88:89, 1979.
64. Shore, V.G., and Shore, G. Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. *Biochemistry*, 12:502, 1973.
65. Stewart, J.E., Schotz, M.C. Release of lipoprotein lipase activity from isolated fat cells. II. Effect of heparin, *J. Biol. Chem.*, 249:904, 1974.
66. Snedecor, G.W., Cochean, W.C. *Statistical methods*; seven edition. Ames the Iowa State University Press, 1980, p. 144.

67. Sniderman, A., Thomas, D., Marpole, D., and Teng. J. Clin. Invest., 61:867, 1978.
68. Taskinen, M.R., and Nikkilä, E.A. High density lipoprotein subfractions in relation to lipoprotein lipase activity of tissues in man evidence for reciprocal regulation of HDL₂ and HDL₃ levels by lipoprotein lipase. Clinica Chimica Acta, 112:325, 1981.
69. Tyroler, H.S. Epidemiology of plasma HDL-cholesterol levels. Circulation (Suppl IV), 1980.
70. Wahl, P., Walden, C., Knopp, R., et al. Effect of estrogen/progestin potency on lipid lipoprotein cholesterol. N. Engl. J. Med. 308:862, 1980.
71. Wahlefeld, A.W. Methoden der enzymatischen analyse. 3a. ed., tomo II, Verlag Chemie, Weinheim, pag. 1878, 1974.
72. Warth, M.R., Arky, R.A., and Knop, R.H. Lipid metabolism in pregnancy. III. Altered lipid composition in intermediate, very low, low, and high-density lipoprotein fractions. J.Clin. Endocrinol. Metab., 41:649, 1975.
73. Windmueller, H.G., Herbert, P.N., and Levy, R.I. Biosynthesis of lumph and plasma lipoprotein apoproteins by isolated perfused rat liver and intestine. J. Lipid Res., 14:215, 1973.
74. Wynn, V., and Niththyananthan. The effect of progestins in combined oral contraceptives on serum lipids with special reference to high-density lipoproteins. Am. J. Obstet. Gynecol. 142:766, 1982.
75. Zilversmit, D.B., et al. J. Lab. Clin. Med., 35:155, 1950.