
FACULTAD DE QUIMICA

**Valores Normales de las Lipoproteínas del Suero
en la Población Mexicana, Obtenidos Me-
diante la Electroforesis en Acetato de Celulosa**

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

MA. DE LOURDES AGUILAR GARCIA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS: Tesis
ADO. 1973
FECHA
PROF M. F. 4



QUINTA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

FACULTAD DE QUIMICA.

" VALORES NORMALES DE LAS LIPOPROTEINAS
DEL SUERO EN LA POBLACION MEXICANA,
OBTENIDOS MEDIANTE LA ELECTROFORESIS
EN ACETATO DE CELULOSA ".

Aguilar García Ma. de Lourdes

Químico Farmacéutico Biólogo.

1 9 7 3 .

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE:

Presidente Prof.:	FERNANDO VELEZ OROZCO
Vocal Prof.:	ENRIQUE VILLARREAL D.
Secretario Prof.:	DEA CORONADO PERDOMO
1er. Suplente Prof.:	MARIO MIRANDA CASTRO
2o. Suplente Prof.:	ROSA MA. GONZALEZ M.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Centro Médico La Raza.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

Ma. de Lourdes Aguilar García.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

Prof. Dea Coronado Perdomo.

A MIS PADRES
CON CARÍÑO Y GRATITUD.

A MIS HERMANOS
CON CARÍÑO.

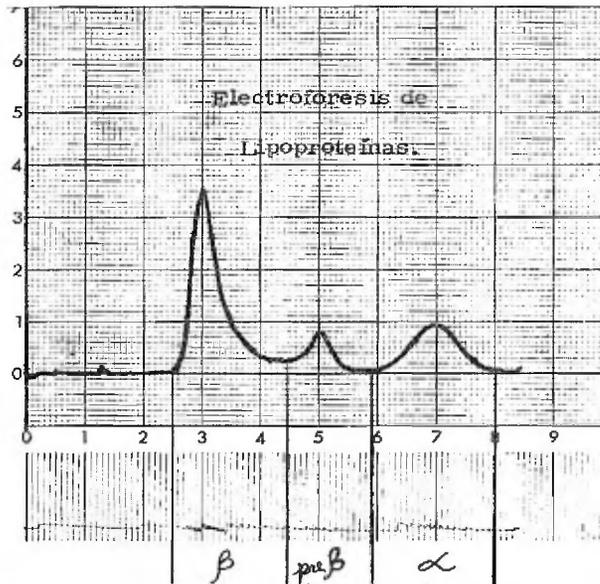
Quiero hacer patente mi agradecimiento a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a la realización de este trabajo.

Al I. M. S. S. y al Dr. Pablo Rivera, Jefe de Laboratorio de Bioquímica del Centro Médico La Raza, por haberme facilitado lo necesario para llevarlo a cabo.

A la Profa. Dea Coronado Perdomo por su valiosa colaboración sin la cual hubiera sido difícil concluirlo.

Y a los Profesores Fernando Vélez Orozco y Enrique Villarreal Domínguez.

" VALORES NORMALES DE LAS LIPOPROTEINAS
DEL SUERO EN LA POBLACION MEXICANA
OBTENIDOS MEDIANTE LA ELECTROFORESIS
EN ACETATO DE CELULOSA "



Trazo densitométrico de la electroforesis de Lipoproteínas de un Patrón NORMAL.

I N D I C E .

	Pág.
INTRODUCCION	1
Historia del estudio de las Lipoproteínas	3
GENERALIDADES	7
Quilomicrones	11
Prebeta Lipoproteínas	17
Beta Lipoproteínas	21
Alfa Lipoproteínas	30
Transporte de lípidos en el plasma	32
Efectos de Nutrición	34
Efectos de Hormonas y Drogas	35
Clínica de las hiperlipemias primarias	36
MATERIAL BIOLOGICO	45
METODOS	47
Determinación de lípidos totales	47
Determinación de colesterol total	49
Determinación de triglicéridos	52
Determinación de lipoproteínas por electroforesis	58
RESULTADOS	65
Estudio estadístico de Beta, Prebeta y Alfa LP.	72
RESUMEN Y CONCLUSIONES	92
BIBLIOGRAFIA	96

INTRODUCCION

La participación de los lípidos séricos (triglicéridos, colesterol, sus ésteres, fosfolípidos, ácidos grasos) en la etiología y desarrollo de la atero y arteriosclerosis ha sido estudiado extensamente en los últimos años. Se sabe que los niveles elevados de lípidos en el torrente circulatorio condicionan alteraciones importantes de las paredes vasculares, lo que origina finalmente arteriosclerosis generalizada. Por ejemplo, un nivel alto de colesterol en suero o plasma supone una relación con la alta incidencia de enfermedades del corazón y una dieta reducida en colesterol o incrementada en ácidos grasos insaturados, o ambas, han sido recomendadas para disminuir el colesterol sérico a un nivel considerado normal.

Ya que los lípidos están unidos en varias proporciones a las proteínas del plasma y son transportados como complejos de lipoproteínas, es evidente que el estudio de su metabolismo en una persona sana y en una enferma, incluirá el examen de las alteraciones en las lipoproteínas y el análisis de la composición de los lípidos que lo forman, junto con las proteínas del complejo. Tales medidas contribuyen significativamente para entender mejor los cambios metabólicos en condiciones patológicas y precisar el

diagnóstico clínico, para poder llevar a cabo el tratamiento terapéutico adecuado cuando se presenta alguna alteración en el metabolismo lipídico.

Es necesario conocer previamente los valores normales de las fracciones de las lipoproteínas, para poder determinar alteraciones patológicas debidas a aumento o disminución de alguna o varias fracciones. La literatura respectiva, solo reporta valores normales en Estados Unidos, y como es de suponer, no pueden considerarse válidos aquí en México. Esto se debe a factores tales como raza, alimentación, medio ambiente, etc.

La falta de estos valores en México y su importancia en la génesis de arteriosclerosis, nos obliga a su estudio, por lo cual la presente tesis profesional esta basada en estudios comparativos de los valores normales encontrados en un grupo de estudiantes de escuelas profesionales de nuestra población, a través de una prueba electroforética.

Deseo fervientemente que su contenido contribuya a una mejor valoración y comprensión del metabolismo lipídico, y por lo mismo a una mejor orientación clínica y diagnóstica.

HISTORIA DEL ESTUDIO DE LAS LIPOPROTEÍNAS.

Las investigaciones sobre la arteriosclerosis y los aumentos de los lípidos séricos o hiperlipidemias han suscitado en los últimos años un creciente interés, el cual se ha encauzado principalmente en el estudio de las lipoproteínas séricas, así como en el estudio de las sustancias que las constituyen.

No fué sino a mediados de este siglo, cuando los investigadores se dedicaron al estudio de las lipoproteínas séricas.

En 1952, Kunkel y Slater, (1), obtuvieron por primera vez patrones de lipoproteínas séricas por electroforé^sis de zona, utilizando papel y almidón como medios de soporte y Sudan III como colorante. El patrón "normal" obtenido por ellos consistió de 2 fracciones solamente, beta y alfa lipoproteínas.

En 1961, Ressler y Cols, (2), describieron también un método de electroforé^sis en papel, observando que este absorbe demasiado las lipoproteínas alterando la cuantificación de las fracciones.

Poco después, en 1963, Lees y Hatch, (3), describieron

una técnica de electroforé^sis en papel en la que ya aparecían cuatro bandas, quilomicrones (aparecen en el origen), beta (lipoproteínas de baja densidad), pre-beta (lipoproteínas de muy baja densidad), y alfa (lipoproteínas de alta densidad).

En 1965, Fredrickson y Lees, dan a conocer una clasificación de hiperlipidemias primarias familiares, basándose en los patrones electroforéticos efectuados en papel. Esto significó un progreso fundamental frente a antiguos intentos de clasificación que hacían referencia a hipercolesterinemia familiar, hiperlipidemia esencial y tipos mixtos. En 1966, Fredrickson y Cols, (4), presentaron un trabajo sobre lipoproteínas, su estructura, funciones y alteraciones en algunas enfermedades.

En 1968, Chin y Blankenhorn, (5), describieron un método de electroforé^sis en acetato de celulosa. Este método sobresale por su completa resolución de las cuatro fracciones, porque pueden separarse cuantitativamente por análisis y porque no requiere la adición de albúmina al amortiguador.

En 1969, Winkelman e Ibbott, (6), llevaron a cabo una técnica para la separación electroforética de lipoproteínas séri-

cas en papel y en acetato de celulosa, evaluando su comparación y deduciendo que la electroforésis en acetato de celulosa tiene ventajas sobre la de papel.

Ese mismo año, y separadamente, Fletcher y Styliou, (7), describieron un método rápido y simple para separar las lipoproteínas séricas en bandas finas y claras por electroforésis, en acetato de celulosa.

En 1970, Burstein y Cols, (8), describen procedimientos para el aislamiento de lipoproteínas séricas con polianiones y cationes divalentes. Una mezcla de lipoproteínas de baja y muy baja densidad se obtienen sin ultracentrifugación por precipitación con heparina y $MnCl_2$, ó $MgCl_2$ con sacarosa, o fosfotungstato sódico y $MgCl_2$. Y ahora por ultracentrifugación se separan las LBD de las LMBD. Cuando se utiliza fosfotungstato sódico y $MgCl_2$, las LAD pueden precipitarse incrementando las concentraciones de los reactivos.

En 1971, aparece un Symposium, (9), sobre Lipoproteínas plasmáticas, el cual resume las características, funciones, estructura y propiedades de las fracciones que las constituyen.

En 1972, aparece una de las obras más recientes, (10), que resume las investigaciones sobre la arteriosclerosis y los aumentos de los lípidos séricos o hiperlipemias.

GENERALIDADES.

Virtualmente todos los lípidos del plasma no existen como entidades químicamente separadas, sino que están en forma de complejos en combinación con proteínas específicas, recibiendo por ello el nombre de Lipoproteínas. Representan un mecanismo por medio del cual los lípidos son llevados en una solución acuosa, el plasma, y pueden ser transportados a través de las membranas celulares.

La combinación química o fisicoquímica de moléculas de lípidos (como colesterol, triglicéridos y ácidos grasos) con proteínas, permite el transporte de grasa en el medio acuoso del cuerpo. Estas combinaciones de lípidos y proteínas incluyen complejos relativamente pequeños (ácidos grasos libres y albúmina), complejos mayores (colesterol, otros lípidos y algunas globulinas), y agregados aún mayores, ricos en triglicéridos, que provocan turbidez del plasma (incluyendo las llamadas partículas endógenas y quilomicrones; estos últimos formados por grasa recién digerida).

Sin embargo, hay bastante estabilidad en estos compuestos para permitir su precipitación y por consiguiente su cuantificación.

ción. Las fuerzas de unión química son lo bastante débiles para permitir intercambio de constituyentes lipídicos con otros en el plasma. Esto se puede demostrar con moléculas marcadas con isótopos radioactivos. Debido a que pueden ser solubles en agua (por su gran tamaño) es difícil visualizarlas, pero hay evidencia de que las porciones hidrofílicas de la molécula, tales como la proteína y fosfolípidos, están hacia el exterior en contacto con el agua, mientras que las porciones hidrofóbicas tales como triglicéridos, colesterol y ésteres de colesterol están en el interior, protegidas del contacto con las moléculas de agua.

Las lipoproteínas estables o inestables, son un grupo heterogéneo de compuestos que pueden separarse en grupos menores o fracciones, por electroforesis, por centrifugación o por otros métodos. Al aumentar la proporción de proteínas, aumenta la densidad de las lipoproteínas. Las 4 fracciones que constituyen las lipoproteínas muestran diferentes velocidades de flotación cuando se centrifugan en una solución de cloruro de sodio, y la migración electroforética se puede medir y registrar fotográficamente mediante el uso de un densitómetro.

Estos hechos nos ayudan a la clasificación de hiperlipemias, en virtud de que ellas indican que: la hiperlipoproteinemias

rara vez ocurre sin hiperlipemia y, consecuentemente, la hiperlipemia puede ser usada para poner de manifiesto las hiperlipoproteinemias; por lo tanto, una clasificación basada en las lipoproteínas ofrece mayor información que aquella que se basa solamente en los lípidos. (11), (12) y (13).

I Características Físicas de Cada Familia de LP.

Lipoproteínas	Sf*	Densidad gm/ml	Movilidad **	P. M.	Tamaño A ***
Quilomicrones	400	0.95	Origen	$10^{-3} - 10^4 \times 10^6$	750-10,000
LMBD	20-400	0.95-1.006	Prebeta	$5 - 10 \times 10^6$	300-800
LBD	0-12	1.006-1.063	Beta	$2.1 - 2.6 \times 10^6$	205-220
LAD	—	1.063-1.21	Alfa	200,000	75-100

* Velocidad de flotación en unidades Svedberg (10^{-13} cm/seg/dina/gm) en una solución de NaCl de densidad = 1.063 gm/ml a 26°C.

** En electroforesis de papel y acetato de celulosa.

*** Determinado por microscopía electrónica.

LP = Lipoproteínas.

II Composición de Cada Familia de LP en Peso Seco (%).

	Quilomi- crones.	LMBD (pre-beta)	LBD (beta)	LAD (alfa)
Proteínas	1-2	10	25	45-55
Triglicéridos	80-95	50-70	10	3
Colesterol Libre	1-3	10	8	15
Col. Esterificado	2-4	5	37	22
Fosfolípidos	3-6	15-20	22	30
Carbohidratos	?	< 1	~ 1	< 1

LMBD = Lipoproteínas de Muy Baja Densidad = pre-beta

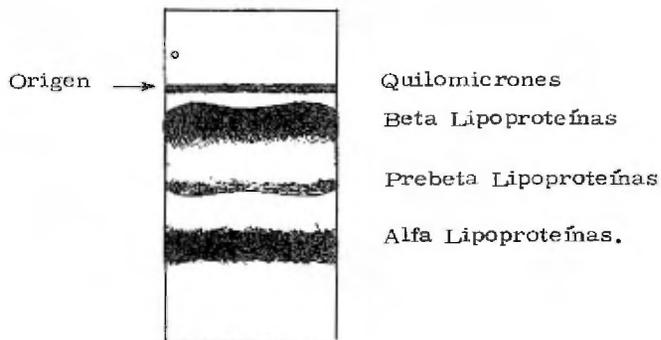
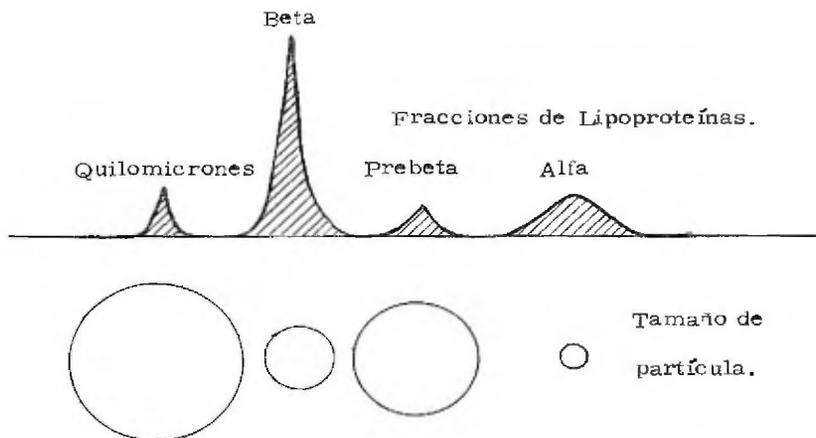
LBD = Lipoproteínas de Baja Densidad = Beta.

LAD = Lipoproteínas de Alta Densidad = alfa.

< = mayor de.

~ = aproximadamente.

Representación esquemática de las cuatro clases más importantes de lipoproteínas de acuerdo a la gráfica obtenida por densitometría, al tamaño de la partícula y a su comportamiento en una electroforesis en acetato de celulosa.



III Quilomicrones. (9).

Junto con las LMBD, los quilomicrones son las formas grandes y pesadas del transporte de lípidos. Se definen como lipoproteínas de Sf mayor de 400, que provienen del tracto gastrointestinal y que sirven para transportar triglicéridos (exógenos) de la dieta, desde el intestino, hasta la linfa. Aunque son las mayores LP del plasma, son los menos conocidos y caracterizados. Originalmente, como definió Gage en 1920, eran estrictamente partículas grasas de origen intestinal. Mas tarde otros investigadores lo han definido en términos de tamaño de la partícula, movilidad electroforética, Sf y densidad. Ellos calcularon que el tamaño esta entre 750-10,000 Å , con un peso molecular de 10^3 a 10^4 millones. La movilidad electroforética es equivalente a la de la α_2 globulina en almidón y permanece en el origen en electroforesis en papel y acetato de celulosa. Su rango de Sf es mayor de 400 y su densidad, menor de 0.95 gm/ml. Ya que las partículas endógenas (LMBD=pre-beta) pueden alcanzar tamaño, Sf y densidad semejantes, probablemente la definición basada en su origen es la mejor. Los quilomicrones son las lipoproteínas más difíciles de aislar libres de contaminación por otras proteínas y lipoproteínas. Una simple centrifugación no es suficiente, y lavados repetidos pueden producir alteración en su estructura. Recientemente,

usando un gradiente de densidad estable, los quilomicrones han si do aislados sin contaminaciones, en un solo paso de centrifugación.

Composición. - Los quilomicrones contienen predomi- nantemente triglicéridos (80-95%) con pequeñas cantidades de fos- folípidos (3-6%), colesterol (3-7%) y proteínas (1-2%). La compo- sición química varía con su tamaño y sitio en que se encuentran. Los quilomicrones del conducto torácico cambian rápidamente al entrar a la corriente sanguínea. Las partículas alteran rápidamen- te su composición de ácidos grasos, fosfolípidos y contenido de proteína, movilidad electroforética y susceptibilidad de flocula- ción en polivinil-pirrolidona.

La naturaleza del componente proteínico de los quilomi- crones es incierta. Algunas proteínas plasmáticas, incluyendo al- búmina y gamma globulina, pueden a veces identificarse inmunoló- gicamente, aún después de repetidos lavados, debido tal vez a que se adhieren a la superficie de los quilomicrones. La apoproteína de los quilomicrones aun no ha sido caracterizada, como lo ha si- do para las LMBD y para las LAD. Un examen de quilomicrones analizando sus aminoácidos ha sugerido la presencia de una proteí- na parecida a la de las LAD, mientras que reacciones inmunológi

cas han sugerido la presencia de una proteína tipo de las LBD.

Estructura.- Usando ambos microscopios, de luz y electrónico, los quilomicrones semejan ser esferas. El incremento en el contenido relativo de proteína, fosfolípidos y colesterol en la superficie, en relación con el incremento del volumen de los quilomicrones, ha sugerido que estos constituyentes pueden ocupar la superficie alrededor del centro, constituido por triglicéridos. De aquí, puede calcularse que la superficie cubierta por proteína y fosfolípido es constantemente alrededor del 20% sobre el tamaño de los quilomicrones. Desde cualquier punto de vista, es mejor ver a los quilomicrones como esferoides, constituidos con un centro o corazón de triglicéridos en el cual hay cierta cantidad de colesterol esterificado disuelto.

Metabolismo.- Síntesis de quilomicrones. La función de los quilomicrones es transportar los triglicéridos de la dieta (exógenos) desde los sitios de absorción en el intestino delgado, vía conducto torácico, en la corriente sanguínea hasta los sitios de utilización en los tejidos. Son producidos en la mucosa intestinal como resultado de la ingestión de ácidos grasos en la dieta, con cadena de 12 carbonos o más. Estos ácidos grasos son transformados a glicéridos en las células de la mucosa y se funden en

partículas llamadas quilomicrones con la adición de colesterol es estabilizante de la superficie, fosfolípidos y proteínas. Los detalles morfológicos y fisiológicos precisos de formación y movimiento de los quilomicrones desde la base del epitelio del yeyuno hacia los linfáticos aún no están claros. Aparentemente los quilomicrones salen de las células de la mucosa intestinal hacia los conductos linfáticos, se filtran a través de nodos linfáticos y eventualmente alcanzan el plasma por vía del conducto torácico. El pequeño componente proteico de los quilomicrones parece ser esencial para su formación y función. En la rara enfermedad, "abetalipoproteinemia", el péptido que forma parte de la proteína de las LBD (que también forma parte de la proteína de los quilomicrones) aparentemente no se sintetiza. Los quilomicrones no se forman, y los triglicéridos se acumulan en la mucosa intestinal. Parece ser que el defecto en la "abetalipoproteinemia" se debe a la dificultad del intestino de sintetizar proteína tipo LBD, ya que ésta, aparentemente no puede entrar a la célula y ser reutilizada para la formación de nuevos quilomicrones.

La aparición de turbidez en el plasma normal sin ayuno, se debe a los quilomicrones. Su presencia en el plasma 12-16 horas después de la última comida es anormal. En presencia de ciertos desórdenes gastrointestinales que retardan la absorción de

la grasa de la dieta, la quilomiconemia en ayuno es el resultado del mal metabolismo de los quilomicrones.

Catabolismo de los quilomicrones. - Estos, son rápidamente removidos del plasma. La naturaleza incierta de la proteína de los quilomicrones y la preponderancia de lípidos en esta macromolécula, ha requerido rigurosa investigación sobre su metabolismo. Cuando los quilomicrones que contienen triglicéridos marcados, son ingeridos por una persona, desaparecen con un tiempo de vida media de 5 a 15 minutos. El mecanismo que remueve los triglicéridos del plasma ha sido sujeto a muchas revisiones, y solo está parcialmente entendido. Los ácidos grasos de los glicéridos de los quilomicrones, son convertidos a glicéridos y fosfolípidos en células localizadas en distintas partes del cuerpo con excepción del cerebro. La mayoría de los ácidos grasos de los glicéridos van al músculo esquelético y al tejido adiposo, menores cantidades pueden encontrarse en hígado, bazo, corazón y otros tejidos. La localización precisa de los quilomicrones es difícil, debido al rápido transporte de los ácidos grasos libres derivados de los glicéridos, de un órgano a otro.

Con la posible excepción del hígado, parece que la mayoría de los triglicéridos de los quilomicrones, son hidrolizados du-

rante el proceso de remoción. Este proceso hidrolítico es mediado por un grupo de enzimas lipolíticas. Recientes experimentos interpretados por Redgrave sugieren que los quilomicrones son degradados por hidrólisis que se inicia en las inmediaciones de el tejido adiposo y músculo esquelético, en tal forma que los ácidos grasos de los triglicéridos entran al músculo y tejido adiposo adyacente, mientras el resto de los quilomicrones relativamente ricos en colesterol, fosfolípidos y proteínas son clarificados por el hígado. Esta hipótesis es compatible con la observación de que el colesterol y sus ésteres, son esencialmente removidos de los quilomicrones, por el hígado.

La hidrólisis inicial de los quilomicrones involucra probablemente la acción de la enzima lipoproteín-lipasa, que esta presente en la pared de los capilares del tejido adiposo y músculo. Esta enzima está ausente del plasma humano en ayunas. La administración intravenosa de pequeñas cantidades de heparina ocasiona la aparición de la actividad lipolítica en el plasma. En los capilares hepáticos, a diferencia de otros tejidos, no hay membrana basal, sino que hay aperturas o canales en el endotelio para admitir quilomicrones en el espacio subendotelial de Disse. La fagocitosis por las células de Kupffer y otras células del Sistema Reticuloendotelial puede sugerir un camino alterno para la desaparición

de los quilomicrones.

Es probable que los triglicéridos en las LMBD y otras lipoproteínas sean removidos por un paso hidrolítico, similar al postulado para los quilomicrones. A pesar de que los triglicéridos de las LMBD son sustrato para la lipoproteína-lipasa, su velocidad de desaparición es menor que la de los quilomicrones. Esto puede ser atribuido a la diferencia de tamaño, siendo los quilomicrones las moléculas mayores, mismas que se remueven más rápidamente que las menores.

IV Pre-Beta. (LMBD). (9).

Las lipoproteínas de muy baja densidad comprenden un grupo de macromoléculas ricas en triglicéridos endógenos, con un rango de Sf de 20 a 400, aislados entre densidades de 0.95 a 1.006 gm/ml. Son partículas esféricas con un diámetro de 300 a 800 Å y un peso molecular de 5 a 10×10^6 , migran con movilidad pre-beta que equivale a ∞_2 en electroforesis de proteínas. Debido a sus características, en su comportamiento fisicoquímico se asemejan a los quilomicrones. Las LMBD entonces, como los quilomicrones, son heterogéneos en tamaño, densidad y Sf, en el extremo menor de su rango de densidad se superponen con los qui

lomicrones y en su extremo mayor se fusionan con las LBD.

Composición. - Los lípidos predominantes de las LMBD son los triglicéridos que comprenden aproximadamente del 50 al 70% del peso de la molécula, con menor cantidad de fosfolípidos (15-25%), colesterol (15-20%) y proteína (7-12%). La relación de fosfolípido/proteína es la mayor encontrada entre las familias de las LP. Las subfracciones de las LMBD han sido separadas por gradiente de densidad, por centrifugación usando un ángulo fijo. Las partículas de menor densidad tienen mas glicéridos y menos proteínas, mientras que las partículas de mayor densidad tienen mas proteína y menor cantidad de glicéridos.

La proteína de las LMBD ha sido recientemente fraccionada en cuatro constituyentes principales, ApoLP-val, ApoLP-glu ApoLP-ala y ApoLP-ala₂. Mediante una combinación de filtración en gel usando Sephadex G-150 y cromatografía de intercambio iónico en acetato de celulosa, se han podido aislar y caracterizar estas proteínas. Aproximadamente el 40% de la proteína de las LMBD parece ser idéntica al componente proteínico principal de las LBD, ApoLBD.

Estructura. - Las características estructural y funcional de todas las apoproteínas diferentes de las LMBD estan lejos de quedar claras. Como en los quilomicrones, las LMBD tienen forma esférica con un lípido neutro central rodeado

por fosfolípidos y proteínas.

Metabolismo.- Síntesis de las LMBD. Esta familia de LP sirve para transportar triglicéridos endógenos. El hígado parece ser el mejor sitio de síntesis de LMBD, sin embargo, recientemente se ha demostrado que también el intestino produce LMBD. Del aparato de Golgi del hígado de rata se han aislado partículas de 300 a 1000 Å de diámetro, estas partículas tienen semejanza microscópica y propiedades inmunológicas y químicas similares a la fracción de LMBD circulante. Parecen contener apoproteínas idénticas a las de las LMBD del plasma, sin embargo, cuantitativamente pueden ser diferentes.

Sujetos con abetalipoproteinemia dejan de sintetizar y/o liberar LMBD en el plasma. Todas las apoproteínas de las LMBD (apoLPala, glu, ser), excepto la ApoLBD, han sido demostradas en el plasma de estos pacientes. Probablemente como en el caso de los quilomicrones, la ApoLBD es esencial para la síntesis o liberación de las LMBD, la incapacidad para sintetizar la ApoLBD constituyente de las LMBD ocasiona la acumulación de triglicéridos en el hígado. Otras sustancias que decrecen la síntesis de proteínas, tales como puromicina y actinomicina, también hacen decrecer la producción de LMBD.

Los principales precursores de la síntesis de glicéridos hepáticos son la glucosa y los ácidos grasos libres (AGL). La síntesis de LMBD puede incrementarse mediante estímulos metabólicos tales como la liberación endógena de ácidos grasos del tejido adiposo, la afluencia de ácidos grasos exógenos hacia el hígado, vía vena porta y la alimentación con carbohidratos.

Catabolismo. - Los sitios y mecanismos para la remoción de las LMBD de la circulación permanecen en controversia. Las LMBD son rápidamente metabolizadas teniendo una vida media en plasma de 6 a 12 horas. Como los quilomicrones, las LMBD se rompen por un proceso que involucra hidrólisis de triglicéridos y conversión a proteínas menores. Y como en los quilomicrones, la enzima lipoproteín lipasa parece jugar un papel muy importante en esta secuencia metabólica.

Estudios recientes con I^{125} , no solo revelan que las LMBD, se rompen para dar lugar a LBD, sino que sugieren que todas las LBD (y ApoLBD) se derivan del metabolismo de las LMBD. Esto hace suponer que las LBD son el resto del catabolismo de las LMBD. Como se discutió con los quilomicrones, los mecanismos para la remoción de glicéridos en LMBD y quilomicrones no se ha comprobado que sean idénticos. Los sitios de remo-

ción parecen estar limitados en capacidad y pueden saturarse rápidamente con niveles altos en triglicéridos plasmáticos.

Las concentraciones de LMBD plasmáticas parecen estar determinadas por el balance entre su síntesis y su catabolismo. La afluencia de AGL, carbohidratos y otros precursores de la síntesis de triglicéridos hepáticos, parecen estimular la producción de LMBD, mientras que la actividad de la insulina, lipoproteína lipasa y concentraciones absolutas de triglicéridos, parecen determinar la remoción de las mismas.

Al menos en el intestino, la evidencia sugiere que los quilomicrones y las LMBD pueden ser especies similares de transporte, difiriendo solamente en su contenido de triglicéridos.

V Beta. (LBD) (9)

En el plasma humano, las lipoproteínas de baja densidad constituyen la fracción más abundante. En comparación con las demás fracciones, ésta es particularmente rica en colesterol y sus ésteres. Su relación lípido/proteína y consecuentemente su densidad son intermedios entre las LAD y las LMBD. Usualmente se definen como el grupo de lipoproteínas que tienen una densidad

en el rango de 1.006 a 1.063. Otras propiedades físicas incluyen su movilidad beta que equivale a la movilidad beta de las proteínas en electroforesis, su peso molecular va de 2.1 a 2.6 X 10⁶, su diámetro promedio es de 205 a 220 Å⁰ y su coeficiente de flotación Sf es de 0 a 12 unidades. Su tamaño esta entre el de las LAD y el de las LMBD.

La importancia fisiológica de las LBD puede resumirse en términos de transporte de colesterol y triglicéridos y su signifi
cación patológica es debida a su muy probable papel en la génesis de la aterosclerosis.

Estructura y Composición. - La fracción proteica cons
tituye aproximadamente el 25% del peso, la de colesterol del 42 al 46%, la de fosfolípidos el 20% y la de triglicéridos 10% como máxim
o.

En 1969, Pollard y Cols han sugerido una ultraestructu
ra para la fracción de las LBD (subclase de densidad de 1.019-1.063). Basados en el microscopio electrónico y en el comportam
iento de centrifugación, sus datos son compatibles con una es
tructura en la cual 20 subunidades de proteína estan arregladas en los vértices de un dodecaedro. La fosfolipasa C causa la adición

de las LBD, e implica que, al menos una parte de los fosfolípidos este en la superficie ocupando las caras del dodecaedro. Los lípidos menos polares se supone que ocupan el centro o corazón de la molécula.

Las fuerzas intramoleculares en las LBD son relativamente débiles, permitiendo la extracción de los lípidos menos polares con solventes tales como el éter. Las interacciones hidrofóbicas parecen ser de mayor importancia entre los lípidos y los grupos no polares de algunos aminoácidos. Los aminoácidos menos polares constituyen el 42% del total de las LBD. Las fuerzas de Van der Waals y las electrostáticas pueden tomar parte también. La unión fosfolípido-proteína es mas difícil de romper.

Las LBD, como las otras lipoproteínas, no tienen su composición estequiométricamente constante, lo que puede deberse a que sus fuerzas intramoleculares son débiles. En 1969, Spritz y Mishkel (9) han reportado que en sujetos con dietas ricas en grasa poli-insaturada decrecen las relaciones colesterol/fosfolípido y colesterol/proteína. En 1970 notaron que en pacientes con hiper-betalipoproteinemia decrece el contenido en triglicéridos.

En la ultracentrífuga analítica, las LBD tienen dos com

ponentes principales, el mayor tiene Sf de 0-12 y el otro tiene Sf de 12-20 y un mayor contenido en triglicéridos, mostrando una mayor sensibilidad terapéutica al clofibrate. El componente de Sf de 12 a 20 esta entre el primero, cuyo Sf es de 0-12 y las lipoproteínas de muy baja densidad (pre-beta), cuyo Sf va de 20-400.

En 1969, Pratt y Dangerfield, demostraron la heterogeneidad de las LBD por otra técnica. Usando un gel de poliacrila-mida en electroforesis, pueden demostrarse dos o más bandas.

Desde hace algunos años hay duda respecto a la homogeneidad o heterogeneidad antigénica de las LBD, es posible que la heterogeneidad aparente sea debida a la incompleta purificación de dichas lipoproteínas.

Pero trabajos recientes, realizados por Alaupovic (1968-1971) muestran una clara heterogeneidad, en términos de propiedades inmunológicas y de composición en aminoácidos. En la terminología de los últimos años, las proteínas de transporte de lípidos, han sido nombradas como Apo-A, Apo-B y Apo-C. El principal péptido de las LBD ha sido bien caracterizado, tiene ácido glutámico con N-terminal y serina con C-terminal, cuya composición en aminoácidos fue establecida por Margolis y

Langdon (9), en 1966. Hay otros aminoácidos con N-terminal, pero en menores cantidades.

Estos datos son compatibles con dos aspectos:

- 1) Que el suero en ayunas tiene tres clases de lipoproteínas bien definidas.
- 2) Se diferencian levemente en su composición lipídica presentando en común algunas apo-proteínas.

Las LBD muestran otras variaciones en composición:

a) Fredrickson, Levy y Lees, en 1967, describen una hiperlipoproteinemia, a veces familiar y relativamente poco común, en la cual las LBD adquieren una atípica baja densidad (1.006) debida a un anormal contenido de triglicéridos. En la fracción LMBD hay entonces 2 componentes, uno LMBD normal y ésta lipoproteína anormal. Quarfordt, Levy y Fredrickson (1971), separaron estos componentes por electroforesis en almidón y comprobaron que el componente anormal contiene apo-proteínas características de las LBD. Esta alteración es rápidamente controlada con clofibrate. La lipoproteína anormal es conocida como beta "floating", "amplia", o "broad", porque debido a su baja densidad y su ancha banda vista en electroforesis, difunde de la zona beta a

la pre-beta.

b) Las hormonas sexuales tienen un pequeño efecto sobre las LBD, los andrógenos tienden a incrementar y los estrógenos a disminuir la relación colesterol/proteína.

Concentración de LBD. - La concentración de LBD en plasma se ve influenciada por el medio ambiente y por factores genéticos. Dentro de poblaciones homogéneas, el medio ambiente influye algo, pero no demostrablemente relacionado con la dieta. Niveles elevados de LBD plasmáticos son comunmente familiares, siendo heredados como una característica dominante y sorprendentemente severos en pacientes homocigotos. También es una contribución genética en individuos normales y hay una alta concordancia en gemelos monocigotos. Asimismo, hay relación entre el nivel sérico de colesterol y el sistema de grupo sanguíneo ABO.

Entre los factores ambientales, la dieta parece ser el más importante. Las grasas saturadas que contienen ácidos palmítico, mirístico o láurico eleva los niveles de colesterol sérico y LBD (pero no LMBD) cuando se ingieren por substitución isocalórica de carbohidratos o de otras grasas. La grasa poli-insaturada, ingerida en substitución de grasa saturada, regularmente dis-

minuye los niveles de colesterol y LBD y también la concentración de triglicéridos y LMBD. Hay una controversia sin resolver acerca del mecanismo de acción de las grasas insaturadas sobre el metabolismo del colesterol plasmático, por un lado se ha observado que en un hombre normal y en algunos animales de laboratorio, la caída en la concentración de LBD resulta del incremento en la conversión de colesterol a ácidos biliares, los cuales son excretados. Por otro lado, basados en estudios igualmente meticulosos y llevados a cabo en individuos hipercolesterolémicos, Grundy y Ahrens (9) sugieren que los niveles de LBD caen, debido a que el colesterol se va del plasma a cavidades extravasculares. Spritz y Mishkel (1969) han demostrado una baja en la relación colesterol/fosfolípidos en las LBD durante la ingestión de grasa poli-insaturada y creen que esto se deba a una menor capacidad de las LBD para transportar el colesterol.

Hay diferencias considerables, debido al sexo, en la concentración de las LBD durante la segunda y sexta década de la vida. Los niveles de LBD son mayores en hombres y Furman, Alaupovic y Howard (1967) han resumido evidencia clara que se deben al balance androgénico/estrogénico.

Funciones.- Lewis y Myant (1967) encontraron que el

colesterol plasmático tiene una vida media de 58 días en sujetos normales. En contraste, la proteína unida a las LBD tiene una vida media de 3.5 a 7 días. Esto es posible debido a que el colesterol se resintetiza en el plasma y rápidamente se intercambia en las cavidades extravasculares, como son hígado, intestino delgado, etc., mientras que las apolipoproteínas son más rápidamente catabolizadas y restituidas. El paso absoluto de colesterol a través del plasma es alrededor de 0.6 a 1.2 g/día, en contraste a los triglicéridos que son de 20 a 40 g y de 100 a 200 g de AGL que pueden ser transportados durante 24 horas.

De mayor interés es un error innato del metabolismo, en el cual las LBD no son demostrables en el plasma, abetalipoproteinemia. Lees cree que el defecto está en la unión de la apolipoproteína con el lípido, pero Gotto y Cols han fracasado al querer detectar la Apo-B en el plasma.

La elevación de las LBD está de acuerdo con la teoría aceptada desde hace mucho, de que el hígado y el intestino delgado son los órganos que sintetizan en mayor proporción el colesterol plasmático. Pero Levy Bilheimer y Eisenberg (1971) han presentado datos indicando que la inyección de LMBD, con sus péptidos radioiodados en un individuo, va seguida por la aparición de LBD

marcadas. Sus ensayos son compatibles con la posibilidad de que las LBD pueden derivarse enteramente de las LMBD. Si su experimento se ve en términos de "familias" de lipoproteínas, las observaciones pueden apoyarse demostrando un cambio en el contenido de lípidos de la familia o familias inyectadas, la cual adquiere las características de las LBD.

El colesterol de las LBD se deriva de varias fuentes.

El colesterol endógeno se atribuye a su síntesis por el hígado, por el intestino delgado y por la piel. El colesterol de la dieta, exógeno, en forma esterificada, es transportado a partir del intestino delgado en los quilomicrones, los cuales pierden la mayoría de su complemento graso cuando actúa la lipoproteín lipasa sobre ellos al atravesar las paredes capilares del tejido adiposo y del músculo. Redgrave en 1970, trabajando con ratas funcionalmente hepatectomizadas, obtuvo evidencia de que pequeñas partículas derivadas de los quilomicrones que contenían aún colesterol esterificado permanecían en la circulación. Normalmente son tomados por el hígado, para producir nuevo colesterol.

Una tercer fuente inmediata de colesterol plasmático es el colesterol no esterificado (libre) de varios tejidos periféricos, el cual necesita ser transportado al hígado para su posterior meta

bolismo o excreción.

Alrededor del 65-70% de colesterol plasmático está esterificado, siendo el ácido linoleico el ácido principal del éster. En el hombre esta esterificación se lleva a cabo intravascularmente, el colesterol libre de las LAD es esterificado a expensas del ácido graso beta insaturado de la lecitina, esto es catalizado por la enzima aciltransferasa-lecitin-colesterol la cual es probablemente secretada por el hígado. En la extremadamente rara deficiencia familiar de esta enzima, el colesterol plasmático esta siempre libre, la baja actividad de la enzima en el plasma se encuentra también en enfermedades hepáticas y puede explicar la alta proporción de colesterol libre/esterificado que a veces se encuentra en estas condiciones.

La lipoproteín lipasa, enzima que inicia el rompimiento de los ácidos grasos de los triglicéridos de los quilomicrones y de las LMBD, es activada por péptidos de la proteína Apo-A. Recientemente, datos publicados por Fielding (1970) sugieren que la enzima puede ser inhibida por las LBD.

VI Alfa (LAD) (9)

Las lipoproteínas de alta densidad o alfa se definen como aquellas lipoproteínas cuya movilidad electroforética equivale a la movilidad de la α_1 globulina.

Son las más pequeñas lipoproteínas plasmáticas, aproximadamente están constituidas por un 45% de proteínas, un 25% de colesterol y un 30% de fosfolípidos, además de una pequeña cantidad de triglicéridos y ácidos grasos libres (AGL).

La vida media biológica es alrededor de 4 días. La función específica de este grupo está aún obscura. Existe alguna evidencia que indica que su función es estabilizar las pre-beta lipoproteínas (LMBD) y para transportar el colesterol y otros lípidos del plasma al interior de las células. Una ausencia casi total de LAD se ha visto en pacientes con enfermedad de Tangier, la cual es una rara enfermedad familiar, asociada a una moderada hipertrigliceridemia y depósito de ésteres de colesterol en el sistema retículo endotelial (amígdalas, hígado y bazo). Las concentraciones de LAD al parecer son muy sensibles a las hormonas estrogénicas, las mujeres tienen concentraciones mayores de alfa y menores de beta lipoproteínas que los hombres. El hiperestrogenismo usualmente ocasiona un marcado incremento en las alfa lipoproteínas y algunas elevaciones de colesterol total dentro de niveles normales

Hasta la fecha han sido bien descritas las hiperlipoproteinemias familiares que involucran alteraciones de quilomicrones, beta o pre beta, pero no se ha encontrado ninguna anomalía genética que produzca alfa hiperlipoproteinemia.

Dado que las cuatro fracciones de LP pueden llevar colesterol, fosfolípidos y triglicéridos en varias proporciones, el medir la elevación de un solo lípido, da una información muy limitada. Un conocimiento de la composición de las lipoproteínas, combinada con la simple observación del plasma después de una noche de ayuno, puede darnos una predicción razonable del tipo de lipoproteína presente.

Este tipo de lipoproteína tiene una densidad entre 1.063 y 1.21. Su tamaño está entre 75 y 100 \AA y su peso molecular es alrededor de 200,000.

VII Transporte de Lípidos en el Plasma (11)

Debido a que los lípidos del plasma están constituidos de AGL, triglicéridos, lecitinas, cefalinas, otros fosfolípidos, colesterol y sus ésteres, investigadores actuales se han convencido que en este grupo solamente los ácidos grasos libres (AGL) y los

triglicéridos representan el cargamento que va a ser llevado de un lugar a otro. El resto de los lípidos son parte de los vehículos sintetizados con el fin de ser los transportadores. El principal vehículo es la fracción LBD. Esta se produce en hígado a partir de una proteína especial combinada con fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol y una pequeña cantidad de triglicéridos, también hay trazas de ácidos grasos libres. Estas lipoproteínas son empleadas para transportar los triglicéridos a través del cuerpo hasta el tejido adiposo. En la superficie de la célula grasa, parte de los triglicéridos se remueve (probablemente debido a lipólisis intermedia) y la lipoproteína básica es reconstituída.

Los triglicéridos exógenos son transportados en la forma de quilomicrones. Los triglicéridos resintetizados después de su absorción en la mucosa intestinal, son incorporados a los quilomicrones en los vasos quilíferos y son transportados vía vasos linfáticos hacia la circulación general. Su primer destino es el tejido adiposo, así como las células reticuloendoteliales y leucocitos. En la corriente sanguínea y en la superficie de las células grasas, la lipoproteína lipasa movilizada y ayudada por la heparina, clarifica el plasma de quilomicrones por hidrólisis parcial de triglicéridos en ácidos grasos libres de glicerol.

El tiempo de vida media en los AGL plasmáticos es de 2 a 3 minutos, lo cual significa que son ávidamente tomados por los tejidos, significando así un combustible importante. Sin embargo, gran parte de este rápido intercambio puede ser llevado a cabo por el hígado, el cual convierte los ácidos grasos libres en varios lípidos o en cuerpos cetónicos.

VIII Efectos de Nutrición.

La influencia de factores nutricionales sobre las diversas clases de lípidos séricos ha sido extensamente estudiada, sin embargo, debido a que dichas clases de lípidos aparecen en distintas proporciones en las diferentes lipoproteínas, estos estudios pueden solamente proporcionar información indirecta de los efectos de la dieta y nutrición sobre las lipoproteínas. En general, la restricción de grasa e ingestión de carbohidratos reduce la fracción de LMBD.

Se ha visto que la ingestión crónica de grasas saturadas incrementa el nivel de LBD, mientras que las dietas altas en grasas insaturadas o carbohidratos promueven la disminución de esta fracción. Herbst y Hurley (1954) observaron que el suero de personas normales aparece lactescente poco tiempo después de una

comida rica en grasas, la electroforesis muestra una banda que aparece en el origen y en el punto de aplicación y que corresponde a los quilomicrones.

Dietas altas en carbohidratos y pobres en grasas de muestran un incremento de la fracción pre-beta (LMBD).

IX Efectos de Hormonas y Drogas.

Las hormonas esteroides pueden afectar la distribución de las lipoproteínas plasmáticas. Los efectos de estrógenos sobre lípidos y lipoproteínas han sido estudiados por varios investigadores. Los andrógenos promueven el incremento de los niveles plasmáticos de LBD. Hellman y Cols. (1959-1962) reportaron que la androsterona aplicada y triglicéridos, reduce por lo tanto, la fracción de LBD. Cuando la androsterona se dió oralmente no se vió ningún efecto sobre la lipemia. La administración de androsterona con ácido clorofenoxiisobutírico dió por resultado una actividad hipolipémica.

Esta combinación fue reportada con un efecto específico para disminuir la fracción de LMBD y con menor efecto sobre las LBD, por lo cual, ha sido utilizada en ciertas hiperlipidemias ca-

racterizadas por niveles altos de LBD o LMBD.

La administración intravenosa de heparina decrece la lactescencia (después de 15 minutos de ingerir alimentos) promoviendo el aclaramiento del plasma por activación de la enzima lipoproteín lipasa, la cual cataliza la hidrólisis de los triglicéridos de los quilomicrones y de las LMBD. En algunas condiciones patológicas, la actividad de esta enzima está reducida o inhibida, resultando un aumento de LMBD y ocasionalmente una quilomicronemia. Entre los casos que han sido estudiados están la nefrosis, la pancreatitis y la hiperlipidemia con alcoholismo crónico.

X Clínica de las Hiperlipemias Primarias (14)

Se ha hecho evidente que el origen de la hiperlipemia es variada, aunque la etiología exacta en cada caso no está aclarada. En muchos casos se considera que es inducida, ya sea por los carbohidratos o las grasas o por ambas. Si esto se pudiera determinar las reducciones apropiadas del contenido de carbohidratos o grasas en la dieta, mejoraría la situación. Los cambios característicos en el patrón electroforético de las lipoproteínas séricas ayudan al diagnóstico.

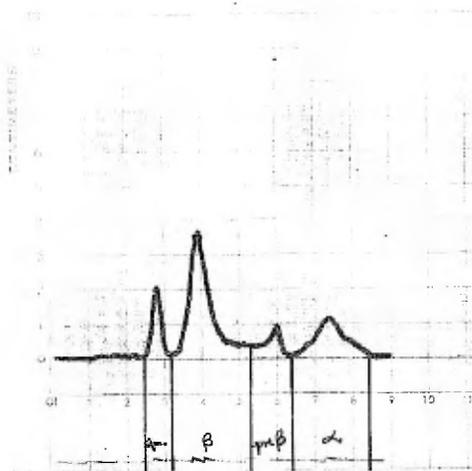
Fredrickson y Lees (1965) han propuesto un sistema para clasificar las hiperlipoproteinemias primarias. Esta clasificación significa un progreso fundamental frente a antiguos intentos que hacían referencia a hipercolesterinemia familiar, hiperlipemia esencial o tipos mixtos. Los signos clínicos principales de los diversos tipos se resumen brevemente como sigue:

TIPO I. - Hiperquilomicronemia.

Antiguamente designada como "Hiperlipemia esencial" o "idiopática", es la hiperlipemia exógena o dependiente de las grasas, la más rara de todas las formas. La herencia parece ser simplemente recesiva y por lo general se diagnostica antes de cumplidos los 10 años de edad. Conducen al diagnóstico dolores abdominales (cólicos) o bien xantomas eruptivos en el cuerpo y ocasionalmente una lipemia retiniana.

La tolerancia a la glucosa esta rara vez alterada, la lipoproteína lipasa, por lo general muy disminuída, la apariencia del suero es lechoso. En el patrón electroforético hay presencia de quilomicrones, además de las fracciones normales, encontrándose elevada la concentración de triglicéridos. Ver la gráfica No. 1.

TIPO I
 COLESTEROL: 273
 TRIGLICERIDOS: 182
 LIPOPROTEINAS:
 QUILOMICRONES: 12.50
 BETA: 50.00
 PREBETA: 12.50
 ALFA: 25.00



Gráfica No. 1

Hiperlipemia TIPO I

TIPO II. - Hiperbeta-lipoproteinemias.

Antiguamente designada como "hipercolesterinemia familiar esencial". El modo de herencia es dominante simple. La manifestación ocurre en la niñez en los casos graves, pero más a menudo en la edad adulta. Son patognómicos los xantomas tendinosos

y los xantelasmas. Origina con mas frecuencia complicaciones vasculares arteriosclerosas, se han descrito infartos en edad infantil.

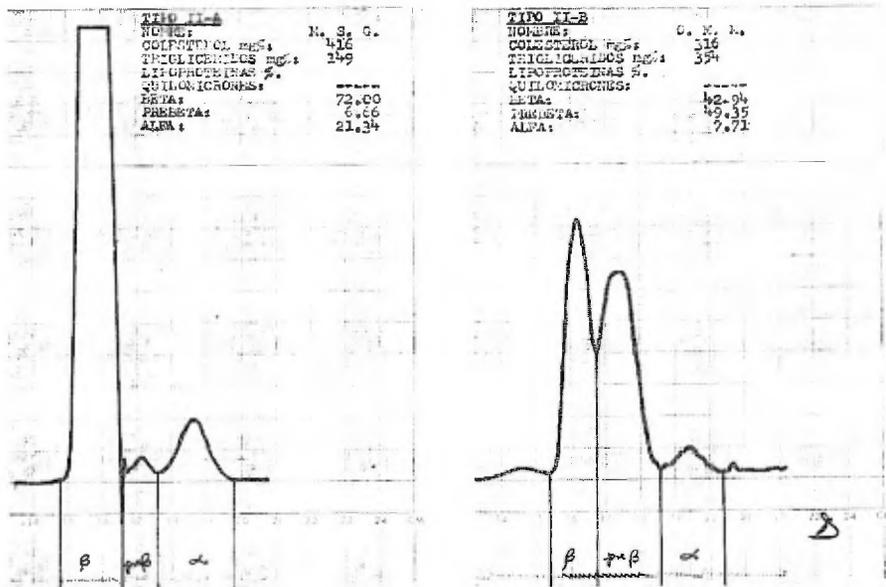
La tolerancia a la glucosa es normal, la acción de la lipoproteín lipasa es normal, la apariencia del suero es claro (en II A) o ligeramente lechoso (en II B).

De acuerdo al patrón electroforético obtenido, este tipo se subdivide en:

II A: Aquí aparece aumentada la fracción beta con la consiguiente elevación del colesterol total.

II B: Aquí aparece aumentada la fracción beta y la pre-beta, con la consiguiente elevación del colesterol total y de triglicéridos.

Ambos casos los podemos visualizar mejor con sus correspondientes gráficas que a continuación tenemos: Gráficas No. 2 y 3.



Gráficas No. 2 y 3

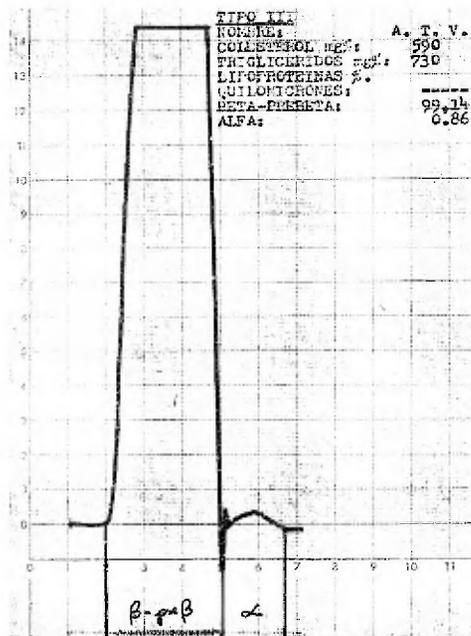
Hiperlipemias TIPOS II-A y II-B

TIPO III. - Broad-beta-hiperlipoproteinemia. (Beta amplia).

Es una hipercolesterolemia que viene condicionada por prebeta lipoproteínas cualitativamente anormales. La herencia parece producirse en forma autosómica recesiva. Se pueden observar en este tipo todas las formas de xantomas, siendo patognómi-

cos en la palma de las manos.

Aproximadamente en un 40% de los casos esta alterada la tolerancia a la glucosa, son frecuentes las complicaciones vasculares. La acción de la lipoproteín lipasa es normal, el suero puede ser claro o lechoso. En el patrón electroforético se observa una banda que va desde la fracción beta hasta la prebeta, por lo que se le llama "floating", "broad" o beta "amplia", encontrándose elevadas las concentraciones de colesterol total y de triglicéridos. Ver la gráfica NO. 4



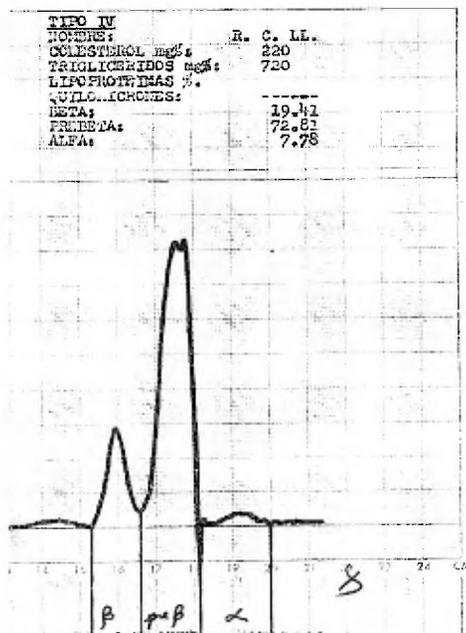
Gráfica No. 4 .

Hiperlipemia TIPO III.

TIPO IV.- Hiper-prebeta-lipoproteinemia.

Probablemente es el tipo mas frecuente de hiperlipoproteinemia. La forma de herencia no esta suficientemente clara. Raras veces se presentan manifestaciones antes de los veinte años de edad, al igual que en los tipos I y V pueden aparecer xantomas eruptivos y dolores abdominales. Se observa a menudo en la enfermedad cardiaca coronaria.

Alrededor del 70% de los casos han mostrado alteraciones de la tolerancia a la glucosa, la acción de la lipoproteín lipasa es normal, el suero puede ser claro o lechoso. En el patrón electroforético se ve aumentada la fracción prebeta, habiendo por consiguiente elevación de la concentración de triglicéridos, el colesterol puede ser normal o ligeramente aumentado. Ver la gráfica No. 5, que es un ejemplo de este tipo.



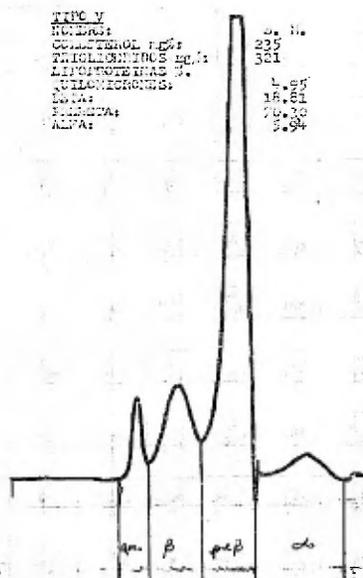
Gráfica No. 5 Hiperlipemia TIPO IV

TIPO V.- Hiperquilomicronemia con hiper-prebeta-lipoproteinemia.

La relación de ambas clases de partículas puede variar sensiblemente. El diagnóstico se hace posible, por lo general, entre los 20 a 30 años de edad. La obesidad se presenta a menudo por encima de lo normal. En cuanto a la patogenia, muchos ca

tos de tipo V son de naturaleza secundaria. Se presentan dolores abdominales, a veces con esplenomegalia y xantomas.

En un 90% de los casos la tolerancia a la glucosa esta alterada, la acción de la lipoproteín lipasa es normal o ligeramente disminuida, el suero es lechoso. En el patrón electroforético hay la presencia de quilomicrones y elevación de la fracción pre-beta, con aumento de triglicéridos y pudiendo el colesterol ser normal o ligeramente elevado. Ver gráfica No. 6



Gráfica No. 6

Hiperlipemia TIPO V

MATERIAL Y METODOS

Material Biológico. - El material biológico utilizado en este trabajo estuvo constituido por sueros de cien personas, 71 del sexo femenino y 29 del sexo masculino, la mayoría de ellos estudiantes con edad comprendida entre los 5 y 45 años, aparentemente sanas.

Las tomas de muestra de sangre para la obtención del suero fueron hechas por punción venosa y en ayuno de 8 a 12 Hrs.

Para poder ser utilizados estos sueros en la obtención de valores normales de LIPOPROTEINAS POR ELECTROFORESIS se tomó como base la normalidad de los lípidos y sus fracciones, por lo que se determinó en ellos:

- 1) Lípidos Totales
- 2) Colesterol
- 3) Triglicéridos

Y una vez comprobado que no existían alteraciones, es decir, que todos los valores obtenidos caían dentro de los límites normales establecidos, se procedió a la determinación de Lipopro

teínas por electroforesis en acetato de celulosa.

Los patrones así obtenidos se consideraron como normales y de ellos se calcularon los porcentajes de cada una de las fracciones y de éstos sus desviaciones estándares.

M E T O D O S .

I Determinación de Lípidos Totales

1. Método: H. Zöllner y K. Kirsch. (15).
2. Fundamento: El suero se calienta con ácido sulfúrico concentrado a 100°C y los productos de degradación de los lípidos se tratan con reactivo de ácido fosfórico vainillina, obteniéndose una coloración rosa por condensación que se lee fotocolorimétricamente. La formación del color depende de la proporción de grasas no saturadas en los lípidos analizados.
3. Material:
 - a) Fotocolorímetro. (En este trabajo utilizamos "Leitz").
 - b) Pipetas de 2, 5 y 10 ml.
 - c) Micropipeta de 50 lambdas.
 - d) Tubos de 13 X 100 mms.
 - e) Baño de agua hirvienteMaterial biológico: Suero sanguíneo.
4. Reactivos:

- a) Acido fosfórico
- b) Vainillina
- c) Acido sulfúrico, 95-97%
- d) Soln. patrón de lípidos, conteniendo 1000 mg%.

Preparación:

- a) Reactivo de color.

Acido fosfórico 11.9 m. Disolver 116.6 g. de ácido fosfórico en agua destilada y llevar a 100 ml.

Vainillina 0.008 m. Pesar 1.224 g. de vainillina y llevar a un litro con agua destilada.

Mezclar volúmenes iguales de ambos reactivos.

5. Procedimiento:

En tubos marcados convenientemente, medir:

	Blanco	Estándar	Problema
Estándar	----	0.05 ml.	----
Suero	----	----	0.05 ml.
H ₂ SO ₄ , 95-97%	----	2.0 ml.	2.0 ml.

Mezclar bien, calentar 10 minutos en agua hirviente, enfriar 5 mi

nutos en agua. De esta mezcla reactiva medir en tubo de ensayo limpio:

	Blanco	Estándar	Problema
Mezcla reactiva	----	0.1 ml.	0.1 ml.
H ₂ SO ₄ , 95-97%	0.1 ml.	----	----
Reactivo de color	2.0 ml.	2.0 ml.	2.0 ml.

Mezclar bien y pasados unos 40 a 50 minutos, comparar las absorbancias del problema y del estándar con el blanco a una longitud de onda de 535 nm.

6. Cálculos:

$$\frac{\text{Absorbancia Probl. X Conc. Estd.}}{\text{Absorbancia del Estd.}} = \text{mg\% de lípidos.}$$

7. Valores normales: De 400 a 750 mg%.

II Determinación de Colesterol

1. Método: Babson, Shapiro y Phillips. (x), (16), (17) y (18).
2. Fundamento: El colesterol es extraído del suero con alcohol éter, el que se mezcla con gel de hidróxido de aluminio

(Seramox)adsorbente, para eliminar la bilirrubina. El extracto centrifugado se trata con cloruro férrico y ácido sulfúrico, dando un color que es lineal por lo menos en 500 mg% de colesterol.

3. Material:

- a) Fotocolorímetro "Leitz"
- b) Pipetas de 5 y 10 ml.
- c) Micropipetas de 100 y 250 lambdas.
- d) Tubos de 13 X 100, y 18 X 150 mms.
- e) Baño de agua fría.

Material biológico: Suero sanguíneo.

4. Reactivos:

- a) Alcohol-éter
- b) Acido sulfúrico conc., grado reactivo
- c) Cloruro férrico
- d) Acetato de etilo, grado reactivo
- e) Estándar en suero: Serachol, preparado comercial.

Preparación:

- a) Reactivo de color: Disolver 100 mg. de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en 100 ml. de acetato de etilo,

grado reactivo. (Proteger el cloruro férrico de la luz).

5. Procedimiento:

- a) Marcar tubos de 13 X 100, para el estándar, el blanco de reactivos y los sueros problemas.
- b) Colocar 0.1 ml. (100 Lambdas) de suero, 0.1 ml. de Serachol para el estándar y 0.1 ml. de agua para el blanco.
- c) Añadir 1.5 ml. de reactivo de extracción en cada tubo.
- d) Añadir 60 mg. de gel de hidróxido de aluminio.
- e) Agitar muy bien y dejar reposar 5 minutos.
- f) Centrifugar a 1500 rpm. durante 3 a 5 minutos.
- g) En tubos de 18 x 150 mms. medir 0.25 ml. del extracto y 1.5 ml. del reactivo de color. Mezclar.

- h) Añadir a cada tubo 1 ml. de ácido sulfúrico conc. estratificando, agitar el tubo para mezclar. Dejar en baño de agua fría durante 20 minutos.
- i) Leer la absorbancia del estándar y del problema en una longitud de onda de 550 nm. contra blanco de reactivos.

6. Cálculos:

$$\frac{\text{Absorbancia Probl. X Conc. Serachol}}{\text{Absorbancia Serachol}} = \text{mg\% de colesterol total.}$$

7. Valores normales: Colesterol total; de 125 a 250 mg%.

NOTA: Los ésteres de colesterol pueden determinarse simultáneamente, incluyendo una precipitación con digitonina. Y los valores normales de éstos son; de 50 a 75% del colesterol total.

III Determinación de Triglicéridos.

1. Método: Van Handel y Zilversmit modf. por Jagannathan. (19).

2. **Fundamentó:** Se basa en la medida del glicerol después de su liberación de los ácidos grasos por saponificación. Ya que el glicerol es también una unidad estructural de fosfolípidos que podría interferir en la determinación de triglicéridos, se eliminan por adsorción con MgO, kaolín, zeolita ó permutita. El extracto libre de fosfolípidos se evapora a sequedad a 60°C. El residuo se incuba con KOH alcohólica ocurriendo la hidrólisis con la formación de glicerol y ácidos grasos. El glicerol es oxidado por peryodato a formaldehído, el cual reacciona con el ácido cromotrópico para formar un compuesto colorido que puede ser medido fotométricamente.

3. **Material:**

- a) Espectrofotómetro "Coleman".
- b) Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml.
- c) Tubos de 50 ml. con tapón de vidrio, y tubos de 20 ml. con tapón de rosca.
- d) Baño de agua hirviente

Material biológico: Suero sanguíneo.

4. **Reactivos:**

- a) Soln. patrón de triglicéridos, de conc. conocida.
 - b) Zeolita o permutita
 - c) KOH
 - d) Etanol absoluto
 - e) Cloroformo
 - f) Acido acético
 - g) Eter de petróleo
 - h) Acido sulfúrico concentrado
 - i) Metaperyodato de sodio
 - j) Bisulfito de sodio
 - k) Sal manosódica del ácido 4,5-dihidroxi-2,7-naftalendisulfónico.
-
- l) Tiourea

Preparación:

- a) KOH al 2,5% en solución acuosa.
Pesar 2.5 g. de KOH, disolver en agua y llevar a 100 ml.
- b) Acido acético al 6% en solución acuosa
Llevar 6 ml. de ácido acético a 100 ml. con agua
- c) Acido sulfúrico 0.7 N.
Diluir 19.5 ml. de ácido y llevarlo a 1000 ml. con agua.

- d) Metaperyodato de sodio 0.025 M.
Disolver 535 mg. de metaperyodato de sodio con agua y diluir a 100 ml.
- e) Bisulfito de sodio al 10% en solución acuosa.
Pesar 10g. de bisulfito de sodio, disolver y llevar a 100 ml. con agua.
- f) Acido cromotrópico.
Soln. A: A 300 ml. de agua añadir 600 ml. de H_2SO_4 conc. (poco a poco y enfriando).

Soln. B: Disolver 2.24 g. de 4,5-dihidroxi-2,7-nafalendisulfónico, sal monosódica en 200 ml. de agua. Guardar en refrigerador y desechar cuando tome un color rojizo.

Soln. C: Mezclar las dos soluciones anteriores, -- guardar en botella color ámbar en refrigerador. Es estable dos semanas. (Generalmente se prepara la décima parte: 90 ml. de A + 20 ml. de B).
- g) Tiourea al 5% en Soln. acuosa.

Llevar 5g. de tiourea a 100 ml. con agua destilada.

5. Procedimiento:

- a) En un tubo de 50 ml. con tapón de vidrio, conteniendo 3 g. de permutita y 2 ml. de cloroformo, agregar 0.3 ml. de suero. Agitar bien.
- b) Añadir 13 ml. de cloroformo, tapar y agitar bien por 5 minutos. Centrifugar a 1500 rpm. por 5 minutos.
- c) Rotular 3 tubos con tapón de vidrio de 20 ml. y medir:

	Blanco	Estd.	Problema
Cloroformo	5.0 ml.	----	----
Soln. Estd. (sobrenadante)	----	5.0 ml.	----
Sobrenadante claro	----	----	5.0 ml.

- d) En baño maría a 60°C evaporar a sequedad el contenido de los tres tubos.

- e) Agregar a cada tubo 0.05 ml. de Soln. de KOH y 1 ml. de etanol absoluto. Mezclar por rotación, asegurándose que las paredes de los tubos sean lavadas. Tapar e incubar a 60°C durante 30 minutos.
- f) Añadir a cada tubo 0.1 ml. de ácido acético al 6%, mezclar por rotación, evaporar a sequedad a 55°C en baño de agua. (puede dejarse toda una noche).
- g) Añadir a cada tubo 10 ml. de éter de petróleo y 3 ml. de reactivo de ácido sulfúrico. Tapar y agitar bien. La capa etérea superior contiene lípidos y ácidos grasos, la inferior ácida, el glicerol.
- h) Descartar lo más posible la capa etérea aspirándola. Medir 2 ml. de la capa ácida en tubos de 20 ml. con tapón de rosca, tapar y colocar en baño maría a 60°C durante 15 minutos.
- i) Adicionar 0.3 ml. de solución de metaperyodato 0.025 M. Mezclar y dejar reposar 10 minutos.
- j) Adicionar 0.2 ml. de bisulfito de sodio, Mezclar y

añadir 10 ml. de ácido cromotrópico, mezclar, tapar y poner en agua hirviendo por 30 minutos en la obscuridad.

k) Enfriar, añadir 1 ml. de tiourea al 5%, mezclar fuertemente.

l) Leer en espectrofotómetro con filtro 570 contra blanco de reactivos.

6. Cálculos:

$$\frac{\text{Absorbancia Probl.} \times \text{Conc Estd.}}{\text{Absorbancia del Estd.}} = \text{mg\% de triglicéridos}$$

7. Valores normales: De 0 a 165 mg% ó

De 0 a 4.9 meq/lt.

IV Determinación de Lipoproteínas por Electroforesis

1. Método: Electroforesis en microzona. (20), (21), (22) y (23).

2. Fundamento: El principio de la electroforesis se basa en el movimiento de partículas (lipoproteínas) en un campo eléctrico, utilizando como medio estabilizante la membrana de acetato de celulosa.

3. Material:

- a) Cámara de microzona
- b) Densitómetro
- c) Refrigerante
- d) Aplicador Beckman
- e) Membranas de acetato de celulosa, Sepraphore III de la Casa Gelman.
- f) Papeles absorbentes
- g) Pinzas, micas

Material biológico: Suero sanguíneo.

4. Reactivos:

- a) Amortiguador B₂ de Beckman, pH=8.6 y fuerza iónica de 0.075. Contiene 2.76 g. de ácido dietil barbitúrico y 15.4 g. de dietil barbiturato de sodio, afo

rado a 1000 ml. con agua destilada.

- b) Aceite rojo, "Red Oil".
- c) Metanol
- d) Hipoclorito comercial, contenido máximo de cloro:
5%.

- e) Acido acético
- f) Dimetil formamida.

Preparación:

- a) Solución colorante
Disolver 1 g. de colorante aceite rojo en una mezcla de 700 ml. de metanol y 300 ml. de agua destilada, calentar a reflujo durante 15 minutos para evitar la evaporación del alcohol, agitar de vez en cuando. Enfriar la solución a temperatura ambiente y conservarla así. Usar sin filtrar. El colorante se puede utilizar 2 ó 3 veces, y sin usar se puede conservar hasta una semana.

- b) Solución decolorante.
Se prepara en el momento de usarse. Agregar 2 --

ml. de hipoclorito comercial en 100 ml. de ácido acético al 15%. Este ácido se prepara llevando 15 ml. de ácido acético a 100 ml. con agua.

- c) Solución aclaradora.

Dimetil formamida al 30% en agua destilada. Llevar 30 ml. de dimetil formamida a 100 ml. con agua destilada.

5. Procedimiento:

- a) Colocar la membrana en el amortiguador para prevenir la formación de paquetes de aire en ella, por lo menos 20 minutos antes de iniciar la electroforesis.
- b) Con unas pinzas sacar la membrana secando el exceso de líquido entre dos papeles absorbentes.
- c) Colocarla en el puente y éste en la cámara. Encender la fuente de poder y dejarla durante 5 minutos - para saturar la cámara con la membrana.

- d) Apagar la fuente de poder. Aplicar 1 microlitro de suero por medio del aplicador (se aplica 4 veces, ya que cada aplicación equivale a 0.025 microlitros)
- e) Encender la fuente de poder, llevarla a 200 volts durante 40 minutos.
- f) Apagar la fuente, desconectar la cámara y con las pinzas retirar la membrana colocándola de inmediato en el colorante.
- g) En el colorante se deja incubar a 37°C de 14 a 24 horas.
- h) Lavar el exceso de colorante con agua destilada.
- i) Pasar la membrana a la solución decolorante y observar su decoloración que ocurre de 1 a 2 minutos. (°NOTA).
- j) Pasar la membrana a la solución aclaradora durante 5 minutos.

- k) Montar la membrana en una placa de vidrio cuidadosamente lavada.
- l) Llevar al horno (85-100°C) de 10 a 15 minutos, con el objeto de transparentarla.
- m) La membrana ya transparente se enmica y rotula.
- n) Graficar en el densitómetro.

6. Cálculos:

El densitómetro mide y registra la intensidad de luz que pasa a través de cada fracción en la muestra, obteniéndose una curva de densidad. El área bajo esta curva es proporcional a la cantidad de colorante y éste a su vez a la concentración de lipoproteínas presentes.

La densitometría se lleva a cabo con **Analytrol Microzone Scanning Attachment Modelo R-102**

La membrana enmicada se coloca en el carro, que tiene una rendija o abertura de 66 mm de longitud por 13 mm de anchura. El motor tiene una potencia de 6 rpm. La velocidad de medición es de 48 mm por minuto.

El establecimiento del cero se ajusta utilizando lecturas en una línea base (cero en la hoja de cuadrícula) obtenidas en ambos extremos de la membrana.

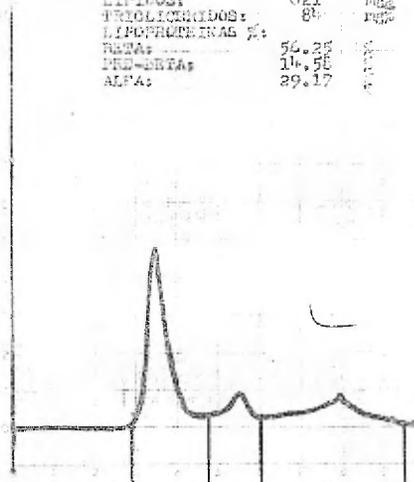
A partir de la gráfica obtenida se calculan los porcentajes de cada una de las fracciones.

NOTA: o Este paso es crítico y debe tenerse cuidado de no decolorar en exceso.

7. Valores normales: más adelante se calcularán.

NORMAL

Nombre:	M. L. A. G.	
COLESTEROL:	180	mg%
LÍPIDOS:	621	mg%
TRIGLICÉRIDOS:	80	mg%
LÍPOPROTEÍNAS %:		
BETA:	56.25	%
PRE-BETA:	16.58	%
ALFA:	29.17	%

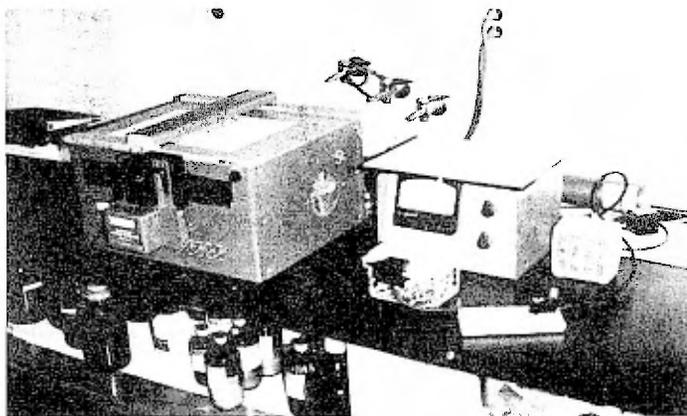


Gráfica No. 7. Patrón NORMAL.

Trazo densitométrico después de la electroforesis de LP (1 microlitro)

Resultado en % de Lipoproteínas.

RESULTADOS.



Aplicador Beckman, Cámara de Microzona,
Regulador de voltaje y Densitómetro
Analytrol de Beckman.

CUADRO No. 1 (*)

No.	Nombre	Edad Años	Sexo	mg%			Lipoproteínas.		% alfa
				Líp.	Col.	Trig.	beta	prebeta	
1.	R.D.	28	F	750	213	160	69.23	10.266	20.51
2.	F.A. DE V.	43	F	749	233	80	62.86	11.43	25.71
3.	F.V.	28	M	749	215	106	57.45	17.02	25.53
4.	Y.P.	22	F	744	167	57	60.86	13.05	26.09
5.	G.C.	23	F	740	242	70	59.26	14.81	25.93
6.	S.V.	26	F	740	255	162	63.15	15.79	21.06
7.	C.A.	17	F	734	196	72	54.28	17.14	28.58
8.	L.T.A.	23	F	730	216	151	64.44	13.33	22.23
9.	C.F.	41	F	721	233	140	58.09	16.30	25.61
10.	M.E.LI.	21	F	718	210	153	63.66	13.88	22.46
11.	M.B.	23	F	716	204	58	70.58	9.80	19.62
12.	P.R.	28	M	714	217	65	62.86	11.43	25.71
13.	I.H.	38	F	710	208	65	60.34	13.80	25.86
14.	L.H.G.	28	F	699	193	109	62.50	12.50	25.00
15.	M.N.M.	21	F	696	198	48	56.25	14.58	29.17
16.	R.T.	22	M	691	186	68	57.14	17.14	25.72
17.	M.D.G.	31	F	690	185	86	68.96	10.84	20.20
18.	I.M.N.	25	F	688	202	73	61.11	13.88	25.01
19.	G.A.P.	18	F	681	174	123	60.00	15.00	25.00
20.	S.V.A.	19	F	681	181	80	54.84	12.90	32.26
21.	L.H.A.	25	F	670	189	68	66.07	8.93	25.00

No.	Nombre	Edad Años	Sexo	mg%			Lipoproteínas. %		
				Líp.	Col.	Trig.	beta	prebeta	alfa
22.	W.P.	32	M	666	187	90	65.11	16.27	18.62
23.	D.M.S.J.	23	F	663	170	50	65.30	8.77	26.53
24.	A.H.	21	F	661	185	51	65.51	10.35	24.14
25.	R.M.S.	35	F	661	173	50	54.55	13.64	31.81
26.	D.M.H.	22	F	658	178	57	50.00	15.79	34.21
27.	L.H.	27	F	650	197	78	57.14	11.90	30.96
28.	R.O.T.	34	M	645	184	49	50.00	14.50	35.50
29.	J.R.	35	M	645	205	63	60.47	13.95	25.58
30.	I.A.A.	23	F	644	186	65	61.66	11.66	26.68
31.	R.A.	40	M	640	209	143	68.75	12.50	18.75
32.	D.C.P.	37	F	638	196	26	63.16	7.90	28.94
33.	A.D.	30	F	635	193	45	53.12	12.50	34.38
34.	A.R.	38	M	635	188	79	55.77	15.38	28.85
35.	C.V.	37	F	631	223	39	58.33	12.50	29.17
36.	M.H.	18	F	629	188	85	69.69	12.12	18.19
37.	L.R.G.	30	F	624	223	70	60.76	11.63	27.61
38.	L.G.T.	23	F	622	195	78	57.77	13.33	28.90
39.	L.A.G.	23	F	621	184	84	56.25	14.58	29.17
40.	A.H.J.	23	F	621	172	123	58.97	12.82	28.21
41.	J.H.	34	M	620	210	110	59.65	14.03	26.32
42.	G.S.	26	M	620	208	76	60.00	11.43	28.57
43.	IN.	36	F	617	187	92	68.42	10.53	21.05

No.	Nombre	Edad Años	Sexo	mg%			Lipoproteínas. %		
				Líp.	Col.	Trig.	beta	prebeta	alfa
44.	M.R.	23	F	615	216	53	69.23	9.61	21.16
45.	A.F.V.	23	F	610	186	84	56.41	12.82	30.77
46.	G.E.	30	F	607	200	162	58.82	14.71	26.47
47.	D.P.	38	M	605	234	72	71.11	11.11	17.78
48.	M.L.A.	42	F	605	196	126	69.23	10.77	20.00
49.	R.A.G.	19	F	604	202	68	54.80	17.80	27.40
50.	C.F.	28	F	596	159	133	53.49	20.93	25.58
51.	R.T.	35	M	590	184	80	58.33	13.88	27.79
52.	J.R.	24	M	588	162	69	55.00	15.00	30.00
53.	J.G.	27	M	586	188	61	70.00	12.50	17.50
54.	L.J.R.	24	M	585	173	79	58.06	16.12	25.82
55.	R.D.	27	M	585	180	105	67.74	12.90	19.36
56.	A.M.C.	40	F	583	182	157	50.00	20.00	30.00
57.	J.V.R.	18	M	581	171	130	68.96	10.35	20.69
58.	F.P.	36	M	580	176	105	58.33	16.67	25.00
59.	M.A.D.	39	F	579	245	68	60.37	13.21	26.42
60.	C.P.M.	23	F	576	192	65	58.50	16.98	24.52
61.	L.P.	20	F	571	233	70	50.00	14.58	35.42
62.	E.A.G.	17	F	571	190	50	52.94	14.70	32.36
63.	M.C.M.	34	F	571	175	111	50.00	18.75	31.25
64.	G.T.	28	F	564	165	70	54.05	16.22	29.73
65.	A.V.	23	F	563	163	44	52.94	11.76	35.30

No.	Nombre	Edad Años	Sexo	mg%			Lipoproteínas.		% alfa
				Líp.	Col.	Trig.	beta	prebeta	
66.	A.A.P.	16	M	560	205	100	58.97	12.82	28.21
67.	T.C.A.	21	F	550	156	105	54.76	14.29	30.95
68.	H.C.A.	16	M	550	178	84	48.75	20.00	33.25
69.	M.E.	20	F	548	165	33	55.32	12.76	31.92
70.	L.A.R.	25	F	546	239	149	66.66	15.68	17.66
71.	C.R.	40	F	540	203	58	60.00	12.00	28.00
72.	G.E.H.	21	M	536	185	83	58.33	16.66	25.01
73.	M.A.G.	21	F	533	178	48	48.48	19.10	32.42
74.	M.A.G.	24	M	520	162	113	51.73	17.23	31.04
75.	L.C.A.	17	F	517	167	63	46.15	20.51	33.34
76.	S.A.	21	F	516	213	74	70.41	10.59	19.00
77.	G.V.	23	M	513	164	75	60.00	14.25	25.72
78.	J.S.	26	F	510	206	56	61.54	11.54	26.92
79.	M.E.R.	21	F	506	167	105	60.42	10.42	29.16
80.	L.A.	23	F	504	204	53	66.10	11.86	22.04
81.	S.M.	33	F	503	160	147	60.60	12.10	27.30
82.	A.M.R.	25	F	496	203	73	65.51	12.07	22.44
83.	R.M.R.	16	F	495	167	105	56.41	12.82	30.77
84.	G.C.	36	F	495	184	94	48.62	21.00	30.38
85.	J.R.	15	M	490	146	78	48.15	14.81	37.04
86.	A.M.	19	F	485	152	48	50.00	14.70	35.30
87.	J.P.	23	M	484	155	91	59.10	13.64	27.26

No.	Nombre	Edad Años	Sexo	mg%			Lipoproteínas.		% alfa
				Lip.	Col.	Trig.	beta	prebeta	
88.	L.B.	22	F	483	155	147	52.77	13.89	33.84
89.	M.A.S.	25	F	480	185	55	59.26	14.81	25.93
90.	M.A.A.	25	F	480	209	116	52.63	15.78	31.59
91.	M.E.A.	18	F	469	170	80	69.69	12.12	18.19
92.	G.T.	23	M	468	150	72	58.82	17.64	23.54
93.	D.B.R.	26	F	463	193	68	64.70	11.76	23.54
94.	G.V.	23	F	460	150	97	53.85	19.23	26.92
95.	J.T.S.	28	M	460	149	50	52.63	15.79	31.58
96.	B.V.G.	23	F	460	137	61	53.33	13.33	23.34
97.	M.J.R.	19	F	458	151	63	48.39	14.90	36.71
98.	R.H.A.	25	F	452	180	66	54.55	12.12	33.33
99.	J.V.V.	32	M	451	141	71	58.14	16.28	25.58
100.	M.A.O.	29	M	450	229	70	60.87	13.04	26.09

Cálculo de los valores promedio de cada una de las tres determinaciones:

Lípidos: 594 mg%

Colesterol: 189 mg%

Triglicéridos: 84 mg%

* La agrupación de todos los cuadros esta de acuerdo al orden decreciente del contenido total de lípidos.

Cálculos Estadísticos de las Fracciones:

Beta, Prebeta y Alfa.

En el cálculo de cada fracción se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n} \quad ; \text{ en donde:}$$

x = Cada uno de los valores hallados

\sum = Suma de

n = Número total de valores observados

\bar{X} = Valor medio.

$$D.S. = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}} \quad ; \text{ en donde:}$$

d = Desviación de la media, o sea la diferencia entre el valor medio (\bar{x}) y cada uno de los valores (x) observados:

$$d = (x - \bar{x})$$

D.S. = Desviación estándar

$$E.S. = \text{Error Estándar:} \quad E.S. = \frac{D.S.}{\sqrt{n}}$$

V.R. = Valor Real: $V.R. = \bar{x} \pm ES \pm (95\%)$

CUADRO No. 2

FRACCION BETA.

No.	X	d ($X - \bar{X}$)	d^2
1.-	69.23	10.23	104.65
2.-	62.86	3.86	14.90
3.-	57.45	(1.55)	2.40
4.-	60.86	1.86	3.46
5.-	59.26	00.26	0.06
6.-	63.15	4.15	17.22
7.-	54.28	(4.72)	22.27
8.-	64.44	5.44	29.59
9.-	58.09	(0.91)	0.83
10.-	63.66	4.66	21.71
11.-	70.58	11.58	139.09
12.-	62.86	3.86	14.90
13.-	60.34	1.34	1.79
14.-	62.50	3.50	12.25
15.-	56.25	(2.75)	7.56
16.-	57.14	(1.86)	3.46
17.-	68.96	6.96	48.44
18.-	61.11	2.11	4.45
19.-	60.00	1.00	1.00
20.-	54.84	(4.16)	17.30

No.	\bar{X}	d $(X - \bar{X})$	d^2
21. -	66.07	7.07	49.98
22. -	65.11	6.11	37.33
23. -	65.30	6.30	39.69
24. -	65.51	6.51	42.38
25. -	50.00	9.00	81.00
26. -	54.55	(4.45)	19.80
27. -	57.14	(1.86)	3.46
28. -	50.00	(9.00)	81.00
29. -	60.47	1.47	2.16
30. -	61.66	2.66	7.07
31. -	68.75	9.75	95.06
32. -	63.16	4.17	17.38
33. -	53.12	(5.88)	34.57
34. -	55.77	(3.23)	10.43
35. -	58.33	(0.67)	0.44
36. -	69.69	10.69	114.27
37. -	60.76	1.76	3.09
38. -	57.77	(1.23)	1.51
39. -	56.25	(2.75)	7.56
40. -	58.97	(0.03)	0.00
41. -	59.65	0.65	0.42

No.	\bar{X}	d $(X - \bar{X})$	d^2
42. -	60.00	1.00	1.00
43. -	68.42	9.42	88.73
44. -	69.23	10.23	104.65
45. -	56.41	(2.59)	6.71
46. -	58.82	(0.18)	0.03
47. -	71.11	12.11	146.65
48. -	69.23	10.23	104.65
49. -	54.80	(4.20)	17.64
50. -	53.49	(5.51)	30.36
51. -	58.33	(0.67)	0.44
52. -	55.00	4.00	16.00
53. -	70.00	11.00	121.00
54. -	58.06	(0.94)	0.88
55. -	67.74	8.74	76.38
56. -	50.00	(9.00)	81.00
57. -	68.96	9.96	99.20
58. -	58.33	(0.67)	0.44
59. -	60.37	1.37	1.87
60. -	58.50	(0.50)	0.25
61. -	50.00	9.00	81.00
62. -	52.94	(6.06)	36.72

No.	X	d ($X - \bar{X}$)	d^2
63. -	50.00	(9.00)	81.00
64. -	54.05	(4.95)	24.50
65. -	52.94	(6.06)	36.72
66. -	58.97	(0.03)	0.00
67. -	54.76	(4.24)	17.97
68. -	43.75	(15.25)	232.56
69. -	55.32	(3.68)	13.54
70. -	66.66	7.66	58.67
71. -	60.00	1.00	1.00
72. -	58.33	(0.67)	0.44
73. -	48.48	(10.52)	110.67
74. -	51.73	(7.27)	52.85
75. -	46.15	(12.85)	165.12
76. -	70.41	11.41	130.18
77. -	60.00	1.00	1.00
78. -	61.54	2.54	6.45
79. -	60.42	1.42	2.01
80. -	66.10	7.10	50.41
81. -	60.60	1.60	2.56
82. -	65.51	6.51	42.38
83. -	56.41	(2.59)	6.71

No.	\bar{X}	d $(X - \bar{X})$	d^2
84. -	48.62	(10.38)	107.74
85. -	48.15	(10.85)	117.72
86. -	50.00	9.00	81.00
87. -	59.10	0.10	0.01
88. -	52.77	(6.23)	38.81
89. -	59.26	0.26	0.06
90. -	52.63	(6.37)	40.57
91. -	69.69	10.69	114.27
92. -	58.82	(0.18)	0.03
93. -	64.70	5.70	32.49
94. -	53.85	(5.15)	26.52
95. -	52.63	(6.37)	40.57
96. -	53.33	(5.67)	32.15
97. -	48.39	(10.61)	112.57
98. -	54.55	(4.45)	19.80
99. -	58.14	(0.86)	0.74
100. -	<u>60.87</u>	<u>1.87</u>	<u>3.49</u>

$$\sum X = 5900.10$$

$$\sum d^2 = 4135.26$$

Cálculo estadístico de la fracción Beta:

$$\bar{X} = 59.00 \pm 2 \text{ D.S.}$$

$$\text{D.S.} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}} = \sqrt{\frac{4135.26}{100}} = \sqrt{41.35}$$

$$\underline{\text{D.S.}} = 6.43$$

$$\text{E.S.} = \frac{\text{D.S.}}{\sqrt{n}} = \frac{6.43}{\sqrt{100}} = 0.643$$

$$\underline{\text{E.S.}} = 0.643$$

$$\text{V.R.} = \bar{X} \mp \text{E.S.} \cdot t(95\%) ; \text{ para } \alpha = 0.05$$

$$\text{V.R.} = 59.00 \mp (0.643) (1.98)$$

$$\underline{\text{V.R.}} = 59.00 \mp 1.27$$

CUADRO No. 3

FRACCION PREBETA:

No.	X	d $(X - \bar{X})$	d^2
1. -	10.26	(6.24)	38.94
2. -	11.43	(5.07)	25.74
3. -	17.02	0.52	0.27
4. -	13.05	(3.45)	11.90
5. -	14.81	(1.69)	2.85
6. -	15.79	(0.71)	0.50
7. -	17.14	0.64	0.41
8. -	13.33	(3.17)	10.04
9. -	16.30	(0.20)	0.04
10. -	13.88	(2.62)	6.86
11. -	9.80	(6.70)	44.89
12. -	11.43	(5.07)	25.70
13. -	13.80	(2.70)	7.29
14. -	12.50	(4.00)	16.00
15. -	14.58	(1.92)	3.68
16. -	17.14	0.64	0.41
17. -	10.84	(5.66)	32.03
18. -	13.88	(2.62)	6.86
19. -	15.00	(1.50)	2.25
20. -	12.90	(3.60)	12.96

No.	\bar{X}	$\frac{d}{(\bar{X} - \bar{X})}$	d^2
21. -	8.93	(7.57)	57.30
22. -	16.27	(0.23)	0.05
23. -	8.77	(8.33)	69.38
24. -	10.35	(6.15)	37.82
25. -	13.64	(2.86)	8.18
26. -	15.79	(0.71)	0.50
27. -	11.90	(4.60)	21.16
28. -	14.50	(2.00)	4.00
29. -	13.95	(2.55)	6.50
30. -	11.66	(4.84)	23.42
31. -	12.50	(4.00)	16.00
32. -	7.90	(8.60)	72.96
33. -	12.50	(4.00)	16.00
34. -	15.38	(1.12)	1.25
35. -	12.50	(4.00)	16.00
36. -	12.12	(4.38)	19.18
37. -	11.63	(4.87)	23.71
38. -	13.33	(3.17)	10.04
39. -	14.58	(1.92)	3.68
40. -	12.82	(3.68)	13.54
41. -14.03		(2.47)	6.10

No.	\bar{X}	d $(\bar{X} - \bar{X})$	d^2
42. -	11.43	(5.07)	25.70
43. -	10.53	(5.97)	35.64
44. -	9.61	(6.89)	47.47
45. -	12.82	(3.68)	13.54
46. -	14.71	(1.79)	3.20
47. -	11.11	(5.39)	29.05
48. -	10.77	(5.73)	32.83
49. -	17.80	1.30	1.69
50. -	20.93	4.43	19.62
51. -	13.88	(2.62)	6.86
52. -	15.00	(1.50)	2.25
53. -	12.50	(4.00)	16.00
54. -	16.12	(0.38)	0.14
55. -	12.90	(3.60)	12.96
56. -	20.00	3.50	12.25
57. -	10.35	(6.15)	37.82
58. -	16.67	0.17	0.03
59. -	13.21	(3.29)	10.82
60. -	16.98	0.48	0.23
61. -	14.58	(1.92)	3.68
62. -	14.70	(1.80)	3.24

No.	X	d $(X - \bar{X})$	d^2
63. -	18.75	(2.25)	5.86
64. -	16.22	(0.28)	0.08
65. -	11.76	(4.74)	22.46
66. -	12.82	(3.68)	13.54
67. -	14.29	(2.21)	4.88
68. -	20.00	3.50	12.25
69. -	12.76	(3.74)	13.98
70. -	15.68	(0.82)	0.67
71. -	12.00	(4.50)	20.25
72. -	16.66	0.16	0.02
73. -	19.10	2.60	6.80
74. -	17.23	0.73	0.53
75. -	20.51	4.01	16.08
76. -	10.59	(5.90)	34.81
77. -	14.25	(2.25)	5.06
78. -	11.54	(4.96)	24.60
79. -	10.42	(6.08)	36.96
80. -	11.86	(4.64)	21.53
81. -	12.10	(4.40)	19.36
82. -	12.07	(4.43)	19.62
83. -	12.82	(3.68)	13.54

No.	X	d ($X - \bar{X}$)	d^2
84. -	21.00	4.50	20.25
85. -	14.81	(1.69)	2.85
86. -	14.70	(1.80)	3.24
87. -	13.64	(2.86)	8.18
88. -	13.89	(2.61)	6.81
89. -	14.81	(1.69)	2.85
90. -	15.78	(0.72)	0.52
91. -	12.12	(4.38)	19.18
92. -	17.64	1.14	1.30
93. -	11.76	(4.74)	22.47
94. -	19.23	2.73	7.45
95. -	15.79	(0.71)	0.50
96. -	13.33	(3.17)	10.05
97. -	14.90	(1.60)	2.80
98. -	12.12	(4.38)	19.18
99. -	16.28	(0.22)	0.05
100. -	<u>13.04</u>	(3.46)	<u>11.97</u>

$$\sum X = 1649.74$$

$$\sum d^2 = 1591.02$$

Cálculo estadístico de la fracción Prebeta:

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n} = \frac{1649.74}{100} = 16.50$$

$$\bar{X} = 16.50 \pm 2 \text{ D.S.}$$

$$\text{D.S.} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}} = \sqrt{\frac{1591.02}{100}} = \sqrt{15.91}$$

$$\text{D.S.} = 3.98$$

$$\text{E.S.} = \frac{\text{D.S.}}{\sqrt{n}} = \frac{3.98}{\sqrt{100}} = 0.398$$

$$\text{E.S.} = 0.398$$

$$\text{V.R.} = \bar{X} \pm \text{E.S. } t(95\%) ; \text{ para } \alpha = 0.05$$

$$\text{V.R.} = 16.50 \pm (0.398) (1.98)$$

$$\text{V.R.} = 16.50 \pm 0.788$$

CUADRO No. 4

FRACCION ALFA:

No.	X	$\frac{d}{(X-\bar{X})}$	d^2
1. -	20.51	(6.54)	42.77
2. -	25.71	(1.34)	1.80
3. -	25.53	(1.52)	2.31
4. -	26.09	0.96	0.92
5. -	25.93	(1.12)	1.25
6. -	21.06	(5.99)	35.88
7. -	28.58	1.53	2.34
8. -	22.23	(4.82)	23.23
9. -	25.61	(1.44)	2.07
10. -	22.46	(4.59)	21.07
11. -	19.62	(7.43)	55.2#
12. -	25.71	(1.34)	1.80
13. -	25.86	(1.19)	1.42
14. -	25.00	(2.05)	4.20
15. -	29.17	2.12	4.49
16. -	25.72	(1.33)	1.77
17. -	20.20	(6.85)	46.92
18. -	25.01	(2.04)	4.16
19. -	25.00	(2.05)	4.20
20. -	32.26	5.21	27.14

No.	\bar{X}	$\frac{d}{(\bar{X} - \bar{\bar{X}})}$	d^2
21. -	25.00	(2.05)	4.20
22. -	18.62	(8.43)	71.06
23. -	26.53	(0.52)	0.27
24. -	24.14	(2.91)	8.47
25. -	31.81	4.76	22.65
26. -	34.21	7.16	51.26
27. -	30.96	3.91	15.29
28. -	35.50	8.45	71.40
29. -	25.58	(1.47)	2.16
30. -	26.68	(0.37)	0.13
31. -	18.75	(8.30)	68.89
32. -	28.94	1.89	3.57
33. -	34.38	7.33	52.27
34. -	28.85	1.80	3.24
35. -	29.17	2.12	4.49
36. -	18.19	(8.86)	78.50
37. -	27.61	0.56	0.31
38. -	28.90	1.85	3.42
49. -	29.17	2.12	4.49
40. -	28.21	1.16	1.34
41. -	26.32	(0.73)	0.53

No.	\bar{x}	$\frac{d}{(x-\bar{x})}$	d^2
42. -	28.57	1.52	2.31
43. -	21.05	(6.00)	36.00
44. -	21.16	(5.89)	34.69
45. -	30.77	3.72	13.83
46. -	26.47	(0.58)	0.34
47. -	17.78	(9.27)	85.93
48. -	20.00	(7.05)	49.70
49. -	24.70	0.35	0.12
50. -	25.58	(1.47)	2.16
51. -	27.79	0.74	0.54
52. -	30.00	2.95	8.70
53. -	17.50	(9.55)	91.20
54. -	25.82	(1.23)	1.51
55. -	19.36	(7.69)	59.13
56. -	30.00	2.95	8.70
57. -	20.69	(6.36)	40.45
58. -	25.00	(2.05)	4.20
59. -	26.42	(0.63)	0.39
60. -	24.52	(2.53)	6.40
61. -	35.42	8.37	70.05
62. -	32.36	5.31	28.20

No.	X	d $(X - \bar{X})$	d^2
63. -	31.25	4.20	17.64
64. -	29.73	2.68	7.18
65. -	35.30	8.25	68.06
66. -	28.21	1.16	1.34
67. -	30.95	3.90	15.21
68. -	31.25	4.20	17.64
69. -	31.92	4.87	23.71
70. -	17.66	(9.39)	88.17
71. -	28.00	0.95	0.90
72. -	25.01	(2.04)	4.16
73. -	32.42	5.37	28.27
74. -	31.04	3.99	15.92
75. -	33.34	6.29	39.56
76. -	19.00	(8.05)	64.80
77. -	25.72	(1.33)	1.73
78. -	26.92	(0.13)	0.01
79. -	29.16	2.11	4.45
80. -	22.04	(5.01)	25.10
81. -	27.30	0.25	0.06
82. -	22.44	(4.61)	21.25
83. -	30.77	3.72	13.84

No.	X	d $(X - \bar{X})$	d^2
84. -	30.38	3.33	10.08
85. -	37.04	9.99	99.80
86. -	35.30	8.25	68.06
87. -	27.26	0.21	0.04
88. -	33.84	6.79	46.10
89. -	25.93	(1.12)	1.25
90. -	31.59	4.54	20.61
91. -	18.19	(8.86)	78.50
92. -	23.54	6.49	42.12
93. -	23.54	3.51	12.32
94. -	26.92	(0.13)	26.92
95. -	31.58	4.53	20.52
96. -	33.34	6.29	39.56
97. -	36.71	9.66	93.21
98. -	33.33	(6.28)	39.44
99. -	25.58	(1.47)	2.16
100. -	<u>26.09</u>	(0.96)	<u>0.92</u>

$$\sum X = 2704.99$$

$$\sum d^2 = 2625.48$$

Cálculo estadístico de la fracción Alfa:

$$\bar{X} = 27.05 \pm 2 \text{ D.S.}$$

$$\text{D.S.} = 5.12$$

$$\text{E.S.} = 0.512$$

$$\text{V.R.} = 27.05 \pm 1.01 \quad \text{Para } \alpha = 0.05$$

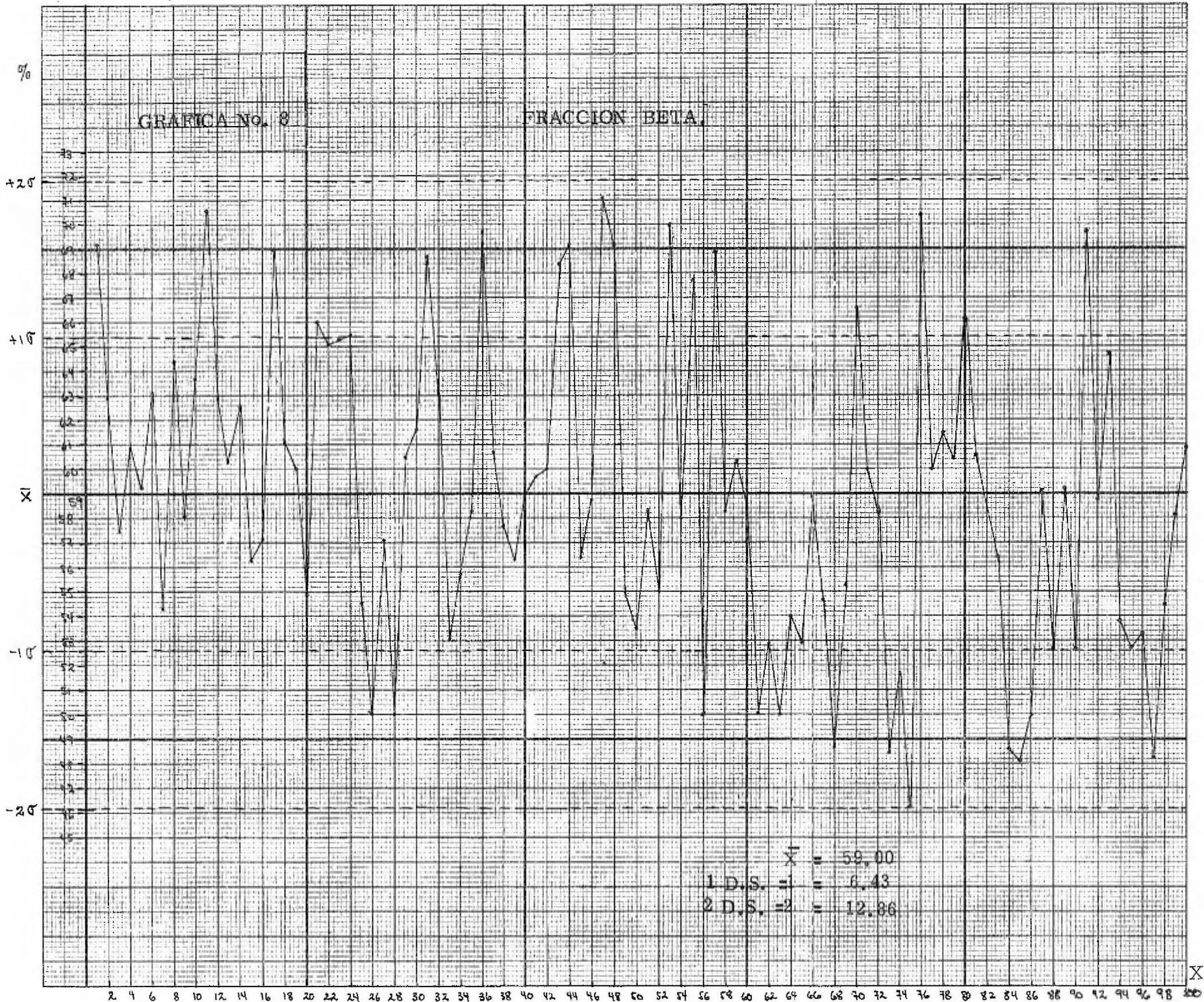
A continuación se registran en gráficas los cien casos estudiados para las fracciones Beta, Prebeta y Alfa y referidos a la media aritmética con ± 2 D.S. Se observa que todos ellos caen en los límites de tolerancia.

El orden seguido al graficar, es el mismo que en los cuadros anteriores.

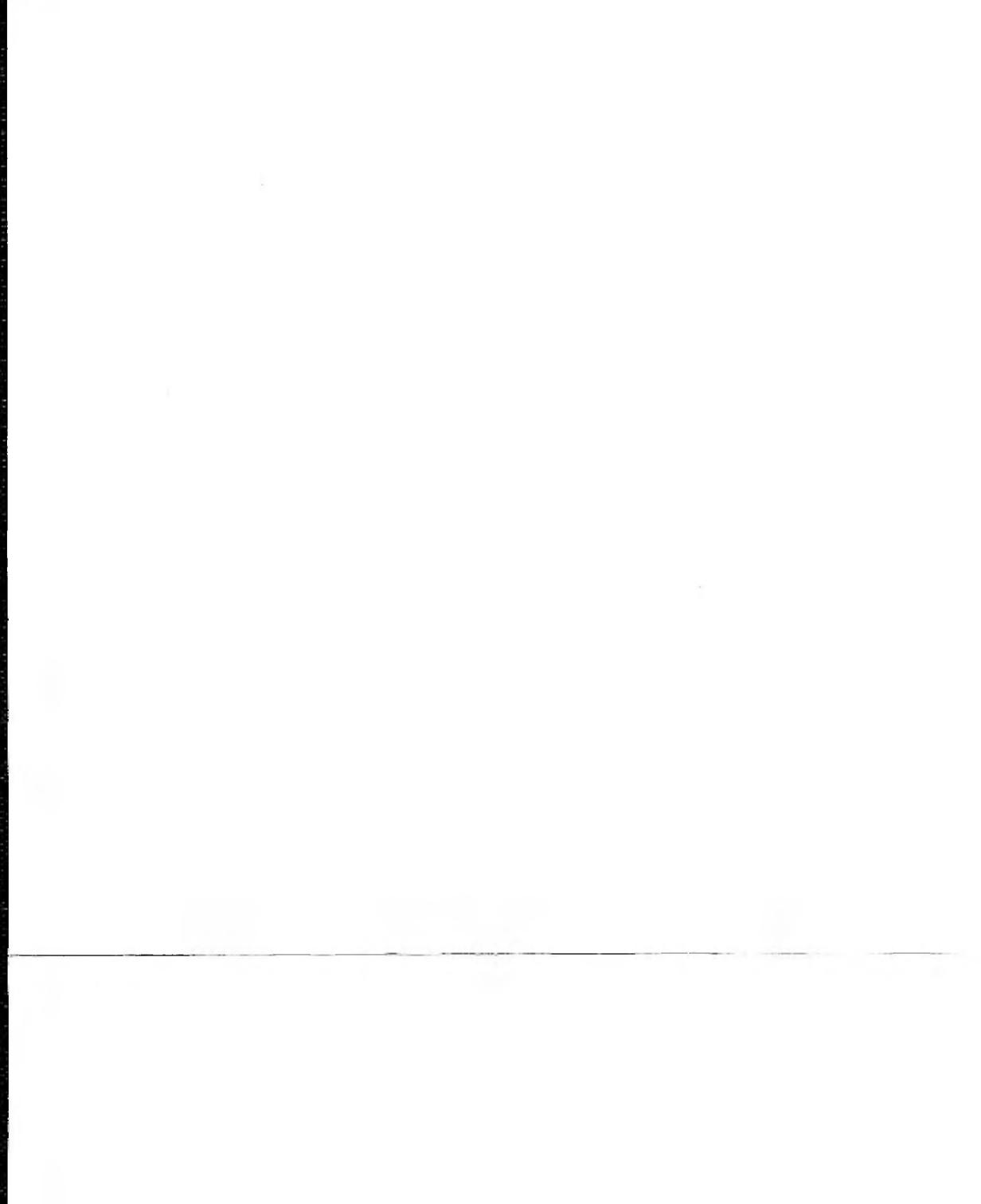


GRÁFICA No. 8

FRACCION BETA.

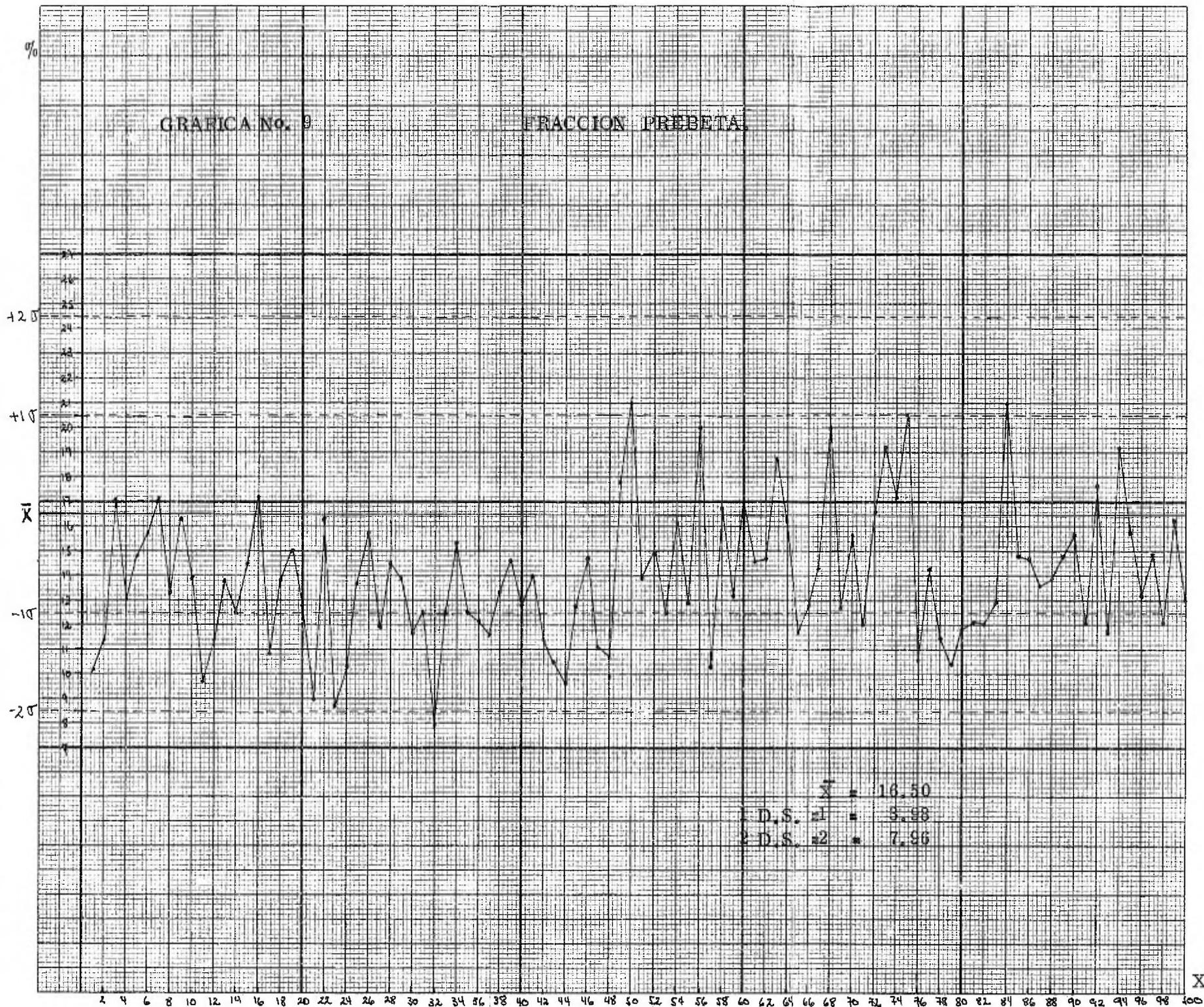


X



GRÁFICA No. 9

FRACCIÓN PREBETA.



%

GRAFICA No. 10

FRACCION ALFA

+25

+15

-25

$\bar{X} = 27.05$
 1 D.S. $\pm 1 = 3.12$
 2 D.S. $\pm 2 = 10.24$

2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50 52 54 56 58 60 62 64 66 68 70 72 74 76 78 80 82 84 86 88 90 92 94 96 98 100 X

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

RESUMEN. -

1. Se hace una breve historia sobre el estudio de las lipoproteínas, generalidades de cada una de las fracciones, mencionando las características fisicoquímicas, composición, estructura, metabolismo y catabolismo, así como la clasificación de las Hiperlipidemias Primarias dada por Fredrickson y Lees.
2. Se describen con detalle los métodos para la determinación de lípidos totales, colesterol, triglicéridos y lipoproteínas por electroforesis y el material empleado en este trabajo.
3. Los valores obtenidos con 100 casos estudiados se registran en los cuadros Nos. 1, 2, 3 y 4. Y los valores promedio de cada componente lipídico fueron, para lípidos totales: 594 mg%; colesterol: 189 mg%; triglicéridos: 84 mg%.
4. Se establecen los valores normales en porcentaje utilizando ± 2 DS que se registran en las gráficas 8, 9 y 10. Al

hacer una comparación con los valores reportados en E. U. vemos que nuestros resultados son ligeramente más bajos quizá debido a factores tales como la alimentación, raza, medio ambiente, etc.

Los valores reportados son:

En E. U.	en México: (Obtenidos en éste trabajo.)
Beta: 63.6 %	Beta: 59.00 %
Prebeta: 9.1 %	Prebeta: 16.50 %
Alfa: 27.3 %	Alfa: 27.05 %

5. Se determinó el error estándar, el coeficiente de variación y el valor real de cada fracción.
6. Se agruparon los valores medios de cada fracción de acuerdo al sexo y edad. Los resultados obtenidos no son concluyentes, sino relativos ya que el número de mujeres y el número de hombres no es proporcional, siendo el número de hombres mucho menor.

CONCLUSIONES:

De lo anterior se concluye que los valores obtenidos, pueden considerarse como "normales" (objetivo del trabajo) en la Población Mexicana comprendida entre los 15 y los 45 años de edad. Dichos valores fueron:

Para la Fracción Beta: $\bar{X} = 59.00 \pm 2 \text{ DS}$
 $\text{DS} = 6.43$
 $\text{ES} = 0.643$
 $\text{VR} = 59.00 \pm 1.27$

Para la Fracción Prebeta: $\bar{X} = 16.50 \pm 2 \text{ DS}$
 $\text{DS} = 3.98$
 $\text{ES} = 0.398$
 $\text{VR} = 16.50 \pm 0.788$

Para la Fracción Alfa: $\bar{X} = 27.05 \pm 2 \text{ DS}$
 $\text{DS} = 5.12$
 $\text{ES} = 0.512$
 $\text{VR} = 27.05 \pm 1.01$

Por edades y por sexos encontramos los siguientes datos:

	Beta %	Prebeta %	Alfa %
De 15 a 30 años:			
Mujeres (56 casos)	58.83	13.67	27.51
Hombres (19 casos)	58.66	17.72	26.61
De 31 a 45 años:			
Mujeres (15 casos)	59.56	13.65	26.78
Hombres (10 casos)	60.56	14.45	24.96

Los cuales nos indican que la fracción Prebeta es ligeramente mayor en los hombres y la fracción alfa es menor. La fracción Beta es muy semejante tanto en el hombre como en la mujer y no hay una diferencia significativa.

A pesar de estas mínimas diferencias, todos los datos quedan dentro de los valores normales hallados.

Todos estos datos esperamos aporten una ayuda valiosa al clínico para establecer un diagnóstico preciso y al mismo tiempo un tratamiento adecuado en los pacientes con trastornos fisiopatológicos en el metabolismo de los lípidos.

B I B L I O G R A F I A .

- 1) Kunkel, H.G. y Slater, R.J. "Lipoprotein Patterns of Serum Obtained by Zone Electrophoresis". 677-684, Rockefeller Institute for Medical Research. New York 1952.
- 2) Ressler, N., Springgate, R. and Kaufman, J. "A Method of Lipoprotein Electrophoresis" J. Chromatog., 6, 409-415, 1961.
- 3) Lees, R.S., and Hatch, F.T. "Sharper Separation of lipoprotein Species by Paper Electrophoresis in albumin-containing buffer". J. Lab. Clin. Med. 61: 518-528, (Mar.) 1963.
- 4) Fredrickson, D.S., Hevy, R.I. y Lees, R.S. "Fat Transport in Lipoproteins- An Integrated Approach to Mechanisms and Disorders". The New England Journal of Medicine. Vol. 276, Nos. 1, 2, 3, 4 y 5. Jan. 5, Jan. 12, Jan. 19. Ja Jan. 26, Febr. 2. 1967.
- 5) Chin, H.P. and Blankenhorn, D.H. "Separation and Quan-

- titative Analysis of Serum Lipoproteins by Means of Electrophoresis on Cellulose Acetate". Clin. Chim. Acta, 20 305, 314, (1968).
- 6) Winkelman, J. y Ibbot, F.A. "Studies on the Phenotyping of Hyperlipoproteinemias. Evaluation of Cellulose Acetate Technique and Comparison with Paper Electrophoresis". Clin. Chim. Acta, Part. I y II, 26. (1969).
- 7) Fletcher, M.J. and Styliou, M.H. "A Simple Method for Separating Serum Lipoproteins by Electrophoresis on Cellulose Acetate". Clin. Chem., Vol. 16, No. 5, (1970).
- 8) Burstein, M., Scholnick, H.R. and Morfin, R. "Rapid Method for the Isolation of Lipoproteins from Human Serum by Precipitation with Polyanions". Journal of Lipid Research, Vol. 11, 583-595, (1970).
- 9) Smellie, R.M.S. "Plasma Lipoproteins". Biochemical Society Symposium No. 33 held in University College, - London. April. Academic Press, London, (1971).

- 10) Hartmann, G. y Wyss, F. et al.
Hiperlipidemias. Aspectos fisiopatológicos, clínicos y terapéuticos.
Editorial Científico-Médica.
México, 1972.
- 11) Hoffman, W.S.
The Biochemistry of Clinical Medicine.
4th Edition.
Year Book Medical Publishers, Inc.
Chicago, 1970.
- 12) Tietz, N.W.
Química Clínica Moderna,
Primera Edición en Español.
Editorial Interamericana.
México. 1970.
- 13) Frankel, S., Reitman, S. y Sonnenwirth, A. (Ed.)
Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.
Vol. 1.
7th Edition.
The C. V. Mosby Company.
Saint Louis, 1970.

- 14) Boletín de la Organización Mundial de la Salud. 43: 891-915.
(1970).
- 15) Zölner, N. y Kirsch, K. *ges. exp. Med.* 135, 545, (1962).
- 16) Babson, A. L., Shapiro, P. O., and Phillips, G. E.: *Clin. Chim. Acta*, 7: 800. 1962.
- 17) Bloor, W. R. : *J. Biol. Chem.* 24: 227, 1916.
- 18) Schoenheimer, R. and Sperry, W. M. : *J. Biol. Chem.* 106: 745, 1934.
- 19) Frankel, S., Reitman, S. y Sonnenwirth, A. (Ed.).
Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.
7th Edition. Vol. 1
The C. V. Mosby Company.
Saint Louis, 1970.
- 20) Chin, H. P. and Blankenhorn, D. H. "Separation and Quantitative Analysis of Serum Lipoproteins by means of Electrophoresis on Cellulose Acetate". *Clin. Chim. Acta*, 20 305-314, 1968.

- 21) Fletcher, M.J. and Stylian, M.H. "A Simple Method for Separating Serum Lipoproteins by Electrophoresis on Cellulose Acetate". Clin. Chem., Vol. 16, No. 5, Págs. 362-365, 1970.
- 22) Beckering, R.E. Jr. and Ellefson, R.D. "A Rapid Method for Lipoprotein Electrophoresis using Cellulose Acetate as Support Medium". Am. J. Clin. Path. 53: 84-88, -- 1970.
- 23) Kohn, J. A. "Lipoprotein Staining Method for Zone Electrophoresis". Nature, 189: 312-313, 1961.