

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

**ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA LIPOPROTEICA  
EN ENFERMOS CON ARTERIOESCLEROSIS**

239

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A**

**GRACIELA VIRGINIA MURGUIA SERANO**

**1 9 7 4**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Tesis

AÑO

1974

227

FECHA

PROG.

M.C. 230



QUIMICA

NUNCA REPARARON EN BRINDARME SUS CONOCIMIENTOS

EXPERIENCIA Y CARIÑO

A MIS PADRES Y MAESTROS



JURADO

PRESIDENTE.

PROF. FERNANDO VELEZ OROZCO

VOCAL.

PROF. RAMON GUEVARA ESTRADA

SECRETARIO

PROF. DEA CORONADO PERDOMO

LUGAR DONDE SE REALIZO EL TEMA.

" HOSPITAL CENTRO MEDICO LA RAZA "

PROF. ASESOR DEL TEMA.

SRITA. Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO

SUSTENTANTE.

GRACIELA VIRGINIA MURGUJA SERANO

INDICE GENERAL.

I	INTRODUCCION . . . . .	1
II	GENERALIDADES.	
	Historia . . . . .	3
	Metabolismo de lípidos . . . . .	7
	Arterioesclerosis . . . . .	12
	Hipertensión Esencial Benigna . . . . .	14
III	MATERIAL METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL	
	Determinación de la actividad.	
	lipolítica. . . . .	16
	Cinética de la reacción . . . . .	18
	Determinación de ácidos grasos. . . . .	19
	Cálculos. . . . .	21
IV	RESULTADOS Y GRAFICAS.	
	Cinética de la reacción.	
	Normales. . . . .	24
	Hipertensión esencial	
	benigna. . . . .	29
	Arterioesclerosis . . . . .	34
	Actividad de la enzima " in vivo "	
	Hipertensión esencial . . . . .	
	benigna. . . . .	39
	Arterioesclerosis . . . . .	44
	Bioestadística.	
	Cinética de la reacción. . . . .	49
	Actividad lipolítica. . . . .	54
	Relación probabilística. . . . .	57
V	DISCUSION . . . . .	58
VI	RESUMEN Y CONCLUSIONES . . . . .	65
VII	BIBLIOGRAFIA. . . . .	67

## **I INTRODUCCION**

El objeto de este trabajo es determinar las alteraciones que se presentan en la actividad de la enzima lipasa lipoproteica, en enfermos con arterioesclerosis y en enfermos con hipertensión arterial esencial benigna.

Esta enzima regula la movilización de los triglicéridos contenidos en los quilomicrones del plasma mediante una hidrólisis, con producción de glicerol y ácidos grasos, que para ser transportados se combinan con la albúmina sanguínea.

Es lógico pensar que una disminución de esta enzima producirá un aumento en los quilomicrones, dando origen a la formación de placas ateromatosas, iniciándose así la enfermedad conocida como arterioesclerosis. Este padecimiento puede ser también producido por un mal funcionamiento de la glándula tiroides, por fallas en el metabolismo de los glúcidos, o como una consecuencia de la hipertensión arterial esencial benigna.

El método usado para determinar la actividad de la enzima fué tomado de los trabajos realizados por el Dr. Donald S. Fredrickson, Director del Instituto Nacional de Investigaciones del Corazón y del Pulmón, en Maryland (1), que consiste en estimular la liberación de la enzima en el organismo mediante la aplicación de heparina en el torrente circulatorio, a las muestras obtenidas se determinan los ácidos grasos liberados por la enzima como resultado de la hidrólisis en diferentes tiempos de incubación, con objeto de establecer una cinética, la determinación de ácidos grasos libres se hizo por el método de Duncombe (2).

El estado físico de los pacientes no es importante en lo que se refiere a la etapa de la enfermedad, pues como se inicia esta investigación, solo trataremos de ver el grado de alteración en la actividad de la enzima, así como establecer la relación

que existe entre los enfermos que padecen arterioesclerosis y los que padecen hipertensión esencial benigna.

La actividad enzimática de personas normales se obtuvo de una población estudiantil que variaban en edades de 20 a 28 años.

Hay que tener en cuenta que los enfermos con diabetes presentan una alteración en la actividad enzimática por lo cual en nuestro estudio fueron descartados.

## II GENERALIDADES.

*Acción*  
La enzima conocida con el nombre de lipasa es una proteína, presente en el organismo que actúa como catalizador de la reacción de hidrólisis de triglicéridos de ácidos grasos de cadenas largas y cortas, fosfolípidos y colesterol. ✓

*Dónde -*  
En el organismo existen cantidades suficientes de ésta enzima en el hígado, páncreas, estómago; catalizando en cada órgano una reacción específica. La lipasa lipoproteica se encuentra generalmente en el tejido adiposo, corazón, tejido muscular esquelético y pequeñas cantidades de ésta se encuentra circulando en el torrente sanguíneo. (6) (7) (9) (28) + *Lipasa*

En el año de 1955 el Dr. Korn, estudió la propiedad que tiene la enzima lipasa lipoproteica para clarificar un plasma quilooso después de una inyección de heparina. (10). Este efecto fué estudiado en el siguiente año, haciéndose la determinación de los ácidos grasos liberados por la enzima con el método propuesto por Cherry y Grandal. (11) ✓

En los años siguientes se realizaron estudios en animales a los cuales se les producía una arterioesclerosis experimental, mediante una dieta elevada en grasas, investigando profundamente, cambios en la actividad lipolítica, presencia y cantidad existente de la enzima en miocardio y aorta (31), aumento en la actividad lipolítica del páncreas (12) (14), cambios relacionados a la dieta dada (19) (20) (30) (32) y efecto del tiempo bajo estas condiciones alimenticias (25).

*int*  
En el año de 1959 se realizó un estudio relacionando la presencia y actividad lipolítica de la enzima en personas con arterioesclerosis, se analizaron aortas de cadáveres de jóvenes normales y de enfermos, observándose que la actividad lipolítica en los enfermos sufre una ligera disminución con respecto a los normales, aunque en el miocardio no hay diferencia de actividad. (13)

En el siguiente año se realizaron dos estudios en casos de arterioesclerosis humana, uno por el Dr. Spaner (15) en arterias de tipo muscular, específicamente en la tibial y femoral, el otro por el Dr. Doubos (16) en las paredes de aortas de cadáveres con arterioesclerosis; en ambos trabajos se llegó a la conclusión que la enzima se encuentra presente en las paredes de las venas y en las placas ateromatosas, pero el Dr. Spaner especificó que en la iniciación de la formación de la placa, la actividad lipolítica está íntimamente relacionada con el depósito de lípidos, en cambio en estados avanzados se localiza en la periferia de los ateromas o sea donde el depósito de lípidos es grande y la actividad es alta como respuesta de las células de las venas a la infiltración de lípidos, mas tarde debido a la degeneración producida a las células, la cantidad de enzima presente disminuye favoreciéndose el depósito de lípidos y sales de calcio.

En 1964 se estudió la influencia de la administración por vía oral de lípidos en jóvenes normales y en adultos con arterioesclerosis (17) estudiando por métodos fotocolorimétricos el factor clarificante de la enzima y determinando ácidos grasos libres y triglicéridos en comparación a pruebas en vivo y en vitro. Los autores concluyeron que el factor clarificante no es menor en los enfermos, en comparación a los normales, pero si es mas marcada y persistente.

En el mismo año el Dr. Babina (18) estudió la actividad lipolítica en el plasma de enfermos arterioescleróticos, siendo de 1.5 meq/l/hr en jóvenes normales y de 1.3 meq/l/hr en los enfermos, concluyendo que esta diferencia es debida al frecuente aumento de grasas neutras dispersas y a los complejos de proteínas en el torrente circulatorio.

En 1966 el Dr. Leits realizó un estudio topográfico de la actividad lipolítica en diferentes estados de evolución de la enfermedad (21) observando que las células que producen



la enzima se distribuyen sobre el área afectada, en el endotelio y en estados avanzados la zona se rodea de lipofagos, existiendo una actividad lipolítica moderada.

En el transcurso del siguiente año el Dr. Petrova estudió la relación de los índices en el intercambio de lípidos en arterioesclerosis coronaria, pues en estos enfermos tienen una alteración en el metabolismo de lípidos y una baja actividad lipolítica; el autor relaciona esto a una disminución de la heparina endógena, pues al administrar pequeñas cantidades de esta sustancia se produce una disminución de las beta-lipoproteínas y un aumento de la heparina libre, al mismo tiempo se observa la presencia de heparinocitos. (22)

En el mismo año el Dr. Churina (23) estudió la actividad de la lipasa pancreática en arterioesclerosis e hiperlipemia, administrando por vía oral aceite de oliva, observándose en ambos casos valores altos de la actividad antes de tomar el aceite y disminuyendo después.

Fue en 1968 (24) cuando se realizaron estudios histoquímicos para determinar la actividad de la enzima citocromo oxidasa y de la lipasa en las paredes de las venas observándose que la actividad de ambas enzimas esta intimamente relacionadas a la actividad de macrófagos presentes en la aorta y en la carótida, manteniéndose en sus valores medios; pero si existe fibrosis por la presencia de placas ateromatosas se produce una ligera disminución de la actividad enzimática.

En el mismo año se estudió la acción del metil palmitato, usado como sustrato en la reacción de la actividad lipolítica post-heparina se observó que esta sustancia esta presente en la sangre y se observó también que la actividad lipolítica es inhibida por los mismos componentes que inhiben a la lipoproteínas en el plasma (NaCl) y que existe diferencia significativa entre normales y enfermos al igual que la relación existente entre sexo y edad (26)

En 1970 el Dr. Reichl aisló y purificó la lipasa lipoproteica de tejido adiposo de ratas, la extrajo con acetona y la estabilizó por incubación en una mezcla de triglicéridos, la preparación fué lo suficientemente estable para soportar la purificación con Sephadex (27). En el mismo año el Dr. Judanova estudió la actividad lipolítica pancreática en enfermos de ambos sexos con arterioesclerosis y con edades que varían de los 50 a los 70 años, encontrando una desviación media de actividad a favor de los enfermos del sexo femenino. (29)

En 1971 además de los estudios realizados en arterioesclerosis experimental en animales, corroborando resultados anteriores (30, 31 y 32 ) el Dr. Slóbodkina observó el efecto de las sales de zinc en conejos con arterioesclerosis experimental en relación al desarrollo de la misma, concluyendo que ejerce un efecto parecido al NaCl, o sea que inhibe la actividad lipolítica. (33)

Finalmente en 1972 el Dr. Yasnoka (34) -- comprobó la acción inhibitoria del cloruro de sodio en la actividad lipolítica y en el factor clarificante de la enzima, previamente purificada con sephadex.

En este estudio trataremos de establecer; primero, el grado de alteraciones presentes en la actividad lipolítica en nuestra población arterioesclerótica y una comparación entre la actividad lipolítica en vivo y la cinética de la reacción realizada en vitro; segundo, establecer la relación existente entre la arterioesclerosis y la hipertensión esencial benigna, comparando ambos resultados contra patrones normales.

Para comprender mejor el proceso de la enfermedad, así como el funcionamiento del método, citaremos a continuación algunos datos sobre el metabolismo y propiedades de los lípidos.

Los lípidos en los mamíferos tienen importancia metabólica y en ellos se incluyen los triglicéridos o grasas neutras, fosfolípidos, esteroides, glucolípidos y terpenoides.

Muchos de los carbohidratos de la dieta son convertidos en grasas antes de ser utilizados para proporcionar energía. Los lípidos como reserva tienen más ventajas que los carbohidratos y las proteínas, pues su valor calórico es dos veces mayor (9.3 cal/g), por lo cual una mínima cantidad de grasas en la dieta es esencial para proveer el suministro adecuado de ácidos grasos esenciales.

Transporte de lípidos en sangre.

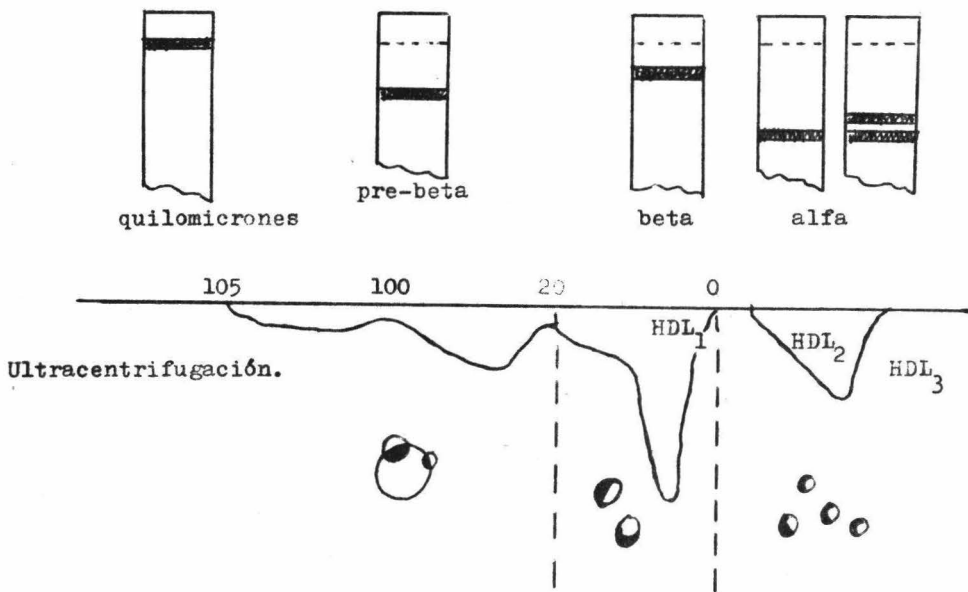
Todos los ácidos grasos de la dieta son absorbidos por el intestino a la linfa, con excepción de los ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos directamente por la vena porta. En el tracto digestivo la mayoría de los triglicéridos son transformados a ácidos grasos y glicerol o monoglicéridos, entonces pasan a través del epitelio intestinal y son resintetizados a nuevas moléculas de triglicéridos, los que entran en la linfa en forma de gotitas llamadas quilomicrones.

Una pequeña cantidad de proteínas es adsorbida por la superficie externa de los quilomicrones, incrementándose así su estabilidad de suspensión en la linfa y previene que se adhieran a las paredes de los vasos linfáticos. Estas proteínas reciben el nombre genérico de lipoproteínas y se han establecido dos clases las alfa y las beta.

Los métodos más comunes para separarlas son los de precipitación por anticuerpos, por electroforesis, ultra-

centrifugación y cromatografía, como se representa a continuación.

Electroforesis en papel.



Los grupos de importancia clínica son:

- Alfa-lipoproteínas - proteínas de alta densidad
- Beta-lipoproteínas - proteínas de baja densidad
- Pre-beta-lipoproteínas - proteínas de muy baja densidad.

Quilomicrones.

Un tercer grupo de lipoproteínas llamadas apoproteínas difieren de las anteriores en su contenido total de aminoácidos y en sus propiedades inmunoquímicas. Su presencia combinada con los lípidos interviene en las funciones y propiedades

químicas de las lipoproteínas. Se han denominado para mayor facilidad, A apoproteínas a las que se encuentran relacionadas con las alfa lipoproteínas, y B apoproteínas a las relacionadas a las beta lipoproteínas.

En el plasma también encontramos, en diferentes proporciones, fosfolípidos, colesterol y glicéridos, que son absorbidos del tracto intestinal y sintetizados por la mucosa intestinal, al igual que los quilomicrones.

**Movilización de los quilomicrones en la sangre.**

Inmediatamente después de una comida abundante en grasas, la concentración de quilomicrones aumenta en un 102 % y el plasma aparece turbio, sin embargo en dos o tres horas los quilomicrones son gradualmente movilizadas y el plasma nuevamente aparece claro. La movilización de los quilomicrones en el plasma puede ser realizado por dos caminos, uno por la acción de la enzima lipasa lipoproteica y el otro por absorción de los quilomicrones por las células hepáticas.

**Absorción de los quilomicrones por las células hepáticas.**

Los quilomicrones son transportados a través de los capilares, directamente al hígado, el cual degrada los lípidos presentes en éstos liberando energía u otras sustancias lipoides.

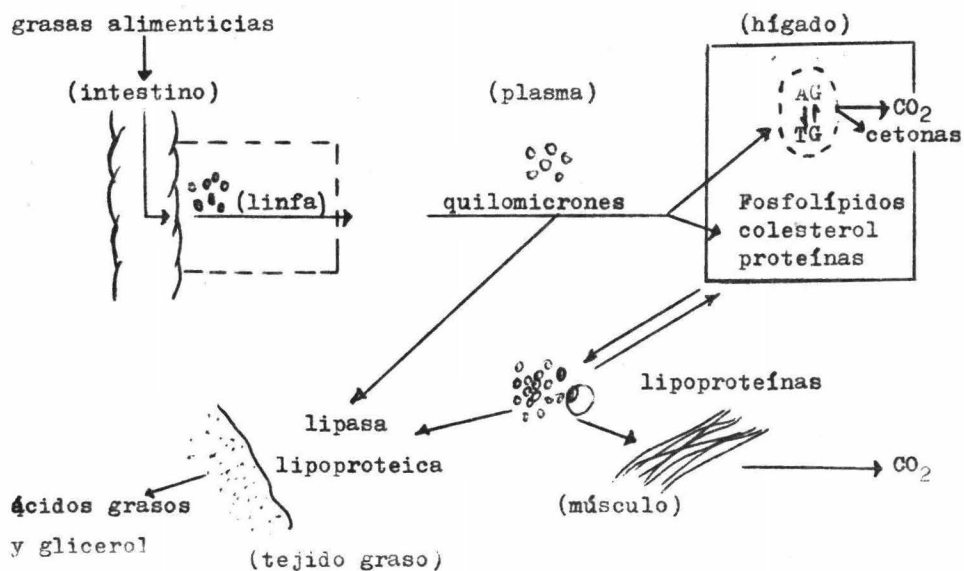
**Hidrólisis por la enzima lipasa lipoproteica.**

En el plasma la mayor parte de los triglicéridos en los quilomicrones son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres bajo la acción de la enzima lipasa lipoproteica. El glicerol es convertido a gliceraldehido y éste incorporado a la glucólisis anaeróbica junto con los ácidos grasos que son combina-

dos con la albúmina para ser transportados, o son catabolizados dentro de las células por la beta oxidasa o son almacenados en el tejido adiposo en forma de grasas neutras o fosfolípidos.

Normalmente en la sangre existen pequeñas cantidades de esta enzima, pero en tejidos como el adiposo, el corazón y los músculos esqueléticos la contienen en mayor cantidad, la cual es liberada por los capilares al torrente circulatorio para producir su efecto hidrolítico.

A continuación tenemos una representación gráfica de éste metabolismo.



Efecto de la heparina en la actividad de la enzima lipasa lipoproteica

Cuando la heparina es inyectada a una persona se estimula la liberación de la enzima, esta actúa hidrolizando la unión ester entre los ácidos grasos y el glicerol de los triglicéridos.

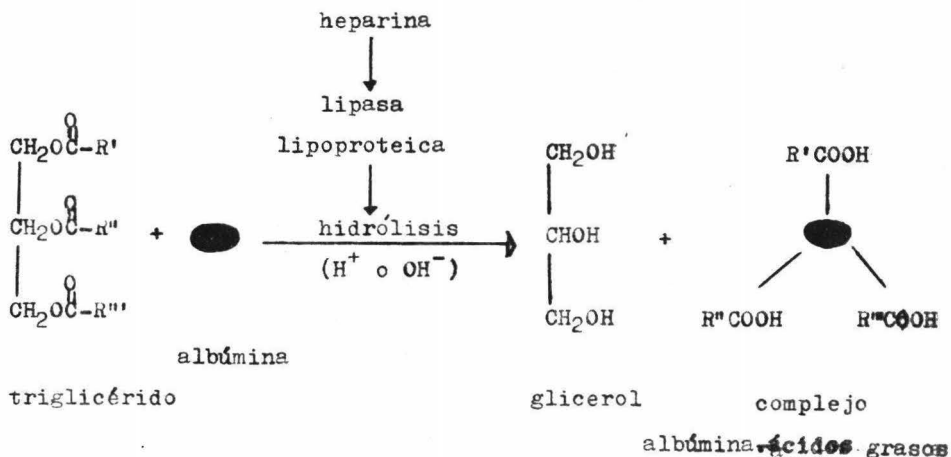
céridos, ocasionando el efecto que se conoce como factor clarificador del plasma.

Transporte de los ácidos grasos.

Los ácidos grasos están presentes en la sangre combinados con la albúmina sanguínea para ser transportados, - debido a su poca solubilidad en medio acuoso; los triglicéridos tan pronto entran en el torrente circulatorio, una parte de ellos es - hidrolizada a ácidos grasos y glicerol y los primeros se combinan con la albúmina para así ser transportados como ácidos grasos libres.

La concentración de ácidos grasos libres en el plasma en estado de reposo es cerca de 15 mg/ml de sangre, o sea un total de 0.75 g de ácidos grasos en todo el torrente sanguíneo. (9).

En el siguiente esquema se representa la acción de la heparina y la formación del complejo de ácidos grasos y albúmina.



### Arterioesclerosis.

Es una enfermedad de las grandes arterias, en la cual hay depósitos de lípidos llamadas placas ateromatosas, estas se forman en la cara interna de las venas y algunas veces se asocian a degeneraciones de la pared arterial.

En un estadio posterior hay infiltración de fibroblastos en las áreas degeneradas y se produce una esclerosis progresiva con presipitación de calcio en las placas ya existentes, en consecuencia las arterias y venas se vuelven duras, pierden elasticidad y se rompen con facilidad, además de que al estrechar la pared de las venas y arterias con superficies rugosas se producen cuábulos que pueden dar origen a trombosis, embolias e infartos.

Se ha observado que casi la mitad de las muertes de los humanos es debido a esta enfermedad y aproximadamente las dos terceras partes de éstas es por trombosis de una o más arterias coronarias y la otra tercera parte es por hemorragias en órganos vitales como lo son el hígado, el tracto intestinal, el cerebro, el riñón, etc.

La arterioesclerosis se presenta en personas de edad avanzada, aunque a veces ocurre en jóvenes adultos. También se ha observado que más hombres padecen de ésta que mujeres y es debido a que las hormonas masculinas aceleran el mecanismo de desarrollo de la arterioesclerosis, en cambio las hormonas femeninas protegen o evitan el desarrollo de la misma pero solamente durante la vida sexual activa, pues al iniciarse la menopausia se suspende la secreción hormonal, por lo cual puede desarrollarse la enfermedad.

La arterioesclerosis en algunos casos es hereditaria y se encuentra relacionada a genes dominantes que pueden producir una familia con gran incidencia de esta enfermedad.



Generalmente se encuentra asociada a una hipercolesterolemia, existiendo en consecuencia un aumento de beta-lipoproteínas, fracción en la cual existen grandes cantidades de colesterol y fosfolípidos, factores que producen que decrezca la estabilidad de suspensión de las lipoproteínas en el plasma y por lo tanto se incrementa el depósito de lípidos en las arterias.

Como consecuencia de la fibrosis y la calcificación, la luz de las arterias se reduce, produciendo un aumento en la presión; usualmente hay un ligero grado de hipertensión y una elevada presión sistólica y diastólica, al igual que una elevación de pulso.

El proceso de endurecimiento también ocurre en todo el árbol arterial y su progresiva destrucción produce dolores en los tejidos por falta de irrigación, gangrenas y ulceraciones en la piel, también se observan lesiones renales que casi siempre terminan en una insuficiencia renal grave.

Se ha observado también que la falta de hormona tiroidea incrementa la cantidad de lípidos en sangre lo cual es generalmente asociado con la presencia de una arterioesclerosis coronaria y periférica grave.

Las reacciones colaterales mas graves de la arterioesclerosis se presentan cuando afectan al cerebro y al corazón. Una trombosis cerebral ya sea parcial o total produce un daño irreversible y en el mejor de los casos solo es dañada una zona, - perdiéndose en consecuencia toda respuesta a los estímulos externos en dicha zona. Una hemorragia cerebral es de grave consecuencia pues si la muerte no es inmediata, ocurre en el transcurso de la primera semana, sin superar el estado de coma, se presenta generalmente en individuos de tipo muscular atlético y que presentan una presión elevada.

La angina de pecho es también una forma de arterioesclerosis, pues debido a la falta de elasticidad de las -

arterias y venas, el suministro sanguíneo no es satisfactorio, produciendo falta de oxigenación, contracción muscular y en consecuencia un dolor intenso, además de la sensación de muerte inminente, al ataque de angina de pecho no dura mucho, apenas unos minutos como máximo, tiempo suficiente para que el corazón reciba nuevamente el suministro de sangre y oxígeno.

✓ El infarto del miocardio, es debido a una oclusión coronaria o trombosis coronaria, la que impide la llegada de sangre al corazón, esto produce que el músculo cardiaco permanezca inerte y se origine una lesión celular (necrosis), ésta lesión es la que constituye el infarto y su gravedad e inclusive la muerte depende del grado de formación del coágulo. Cuando el infarto evoluciona hacia la curación, las células necróticas son destruidas y reabsorbidas y en su lugar se forma tejido conectivo, sin la capacidad de contraerse, dependiendo de la situación y tamaño de la cicatriz el individuo puede reincorporarse a su vida normal. La mortalidad por infarto a miocardio es muy elevada (1/3).

#### Hipertensión arterial esencial benigna.

El estado de presión arterial alta, es debida al angostamiento o constricción de las arterias en todo el organismo, disminuyendo el flujo a través de los pequeños vasos, por lo que el corazón tiene que bombear mas fuertemente para conservar la circulación sanguínea

Las causas específicas de hipertensión sólo son conocidas en un 20 % de los casos, éste porcentaje es denominado como enfermos con hipertensión esencial benigna. Presenta también la característica de estrechamiento de las arteriolas y se conoce como benigna sólo cuando progresa lentamente, esto puede ser por factores hereditarios; también se ha relacionado con la obesidad, diabetes mellitus, pielonefritis crónica o glomerulonefritis,

por tumores en las glándulas endocrinas y en muchas ocasiones debido a la vida que llevan, sin que se deba a la dieta o al clima, pero no se ha acelerado todavía.

La hipertensión esencial benigna puede existir por muchos años sin evidencia alguna que sugiere su presencia, pero una vez que ha sido definitivamente establecida es necesario hacer un exámen completo para evaluar las complicaciones y establecer el progreso y severidad del estado hipertenso.

Las complicaciones mas frecuentes se presentan en el corazón, ojos, cerebro y riñones. El exámen de los vasos sanguíneos en la retina del ojo a menudo ayuda a determinar la condición de los mismos.

La hipertensión se encuentra frecuentemente relacionada a una esclerosis de todo el árbol arterial. En el país el 15 o 20 % de los fallecimientos de personas mayores de 50 años son causadas por consecuencias inmediatas o remotas de hipertensión. En estos casos, factores como la supresión o baja ingestión de sales, control de peso son efectivos para regular la hipertensión, sobre todo se estas personas llevan una vida de extrema preocupación e inclusive semi-invalidismo.

En el curso del tratamiento se debe tener en cuenta las complicaciones que involucran otros órganos, por lo que se haran periodicamente, exámen de fondo de ojo, electrocardiogramas, radiografías para ver el tamaño del corazón, pruebas para funcionamiento renal, etc.

### III MATERIAL METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL.

## PLAN DE TRABAJO.

Para la determinación de la actividad de la enzima lipasa lipoproteica, el material humano utilizado en este trabajo se dividió en:

- 1.- 20 personas " clínicamente sanas " en edades que fluctuaban de los 20 a los 28 años, con el objeto de establecer valores normales y poder comparar la actividad de la lipasa lipoproteica con el grupo de pacientes con arterioesclerosis y con hipertensión esencial benigna.
- 2.- 20 pacientes con arterioesclerosis, controlados en el servicio de hipertensión del Centro Médico La Raza, los cuales han padecido un infarto al miocardio.
- 3.- 20 pacientes con hipertensión esencial benigna, controlados en el servicio de hipertensión del mismo centro hospitalario.
- 4.- Variaciones que presentan los datos obtenidos y estudio estadístico de los mismos en los tres grupos obtenidos.

## MÉTODOS.

Los métodos utilizados fueron: para la liberación de la enzima en el organismo, el propuesto por el Dr. Donald S. Fredrickson (1) y para la determinación de ácidos grasos el método de Duncombe (2).

### DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

#### CINETICA DE LA REACCION.

Método de DR. Donald S. Fredrickson

#### Fundamento.

Se basa en la liberación de la enzima por la acción de la heparina sódica aplicada por vía intravenosa, actualmente no

se sabe como se realiza esta estimulación para la liberación de la enzima. La cuantificación de la enzima se hizo "in vivo", mediante la determinación indirecta de los ácidos grasos hidrolizados por la enzima en el organismo, tanto la presente como la liberada por la heparina; también se realizó la cinética de la reacción "in vitro", proporcionando además del plasma, aceite de coco como sustrato y albúmina como transportador de los ácidos grasos libres y se incubó a diferentes tiempos.

#### MATERIAL.

##### Material biológico.

- Plasma heparinizado. ( 1 mg de heparina sódica / ml de sangre)

##### Material de laboratorio.

- Incubadora con termómetro.
- Centrífuga.
- Tubos de centrifuga de 15 ml.
- Jeringas desechables de 2.5 ml y de 10 ml.
- Pipetas de vidrio de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
- Gradilla.

##### Material químico o reactivos.

- Heparina sódica. 1000 U/ml
- Albúmina humana. 20 mg/100 ml de una solución de sulfato de amonio 0.1 N .
- Aceite de coco. 50 mg/ml de solución salina, agitando perfectamente antes de usarse para lograr una emulsión adecuada.

#### TOMA DE LA MUESTRA.

Al paciente en ayunas se le toma una muestra de 10 ml de sangre, inmediatamente se le introduce por vía intravenosa 0.1 ml/kg de peso, de heparina sódica. A los 10 minutos se le extrae otra muestra de 10 ml de sangre y se marcan como pre-heparina y post-heparina respectivamente.

Las muestras se centrifugan para separar el plasma, el cual puede guardarse en refrigeración si no es analizada inmediatamente.

#### CINETICA DE LA REACCION.

En tubos de 10 x 75 convenientemente marcados añadir de acuerdo con el siguiente cuadro.

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8
Albúmina	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Aceite de coco	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Plasma pre-heparina	0.2	0.2	0.2	0.2	-	-	-	-
Plasma post-heparina	-	-	-	-	0.2	0.2	0.2	0.2
- Incubar a 37 grados centigrados -								

Remover los tubos de la siguiente forma.

Tubos número 1 y 5 a los 5 minutos ( tiempo cero)

2 y 6 a los 15 minutos

3 y 7 a los 30 minutos

4 y 8 a los 45 minutos.

a los tubos una vez sacados de la incubadora se les determina inmediatamente los ácidos grasos libres por el método de Duncombe, creo necesario hacer notar que la reacción enzimática se detiene en el momento de añadir el plasma al cloroformo, primer paso del método para determinar los ácidos grasos libres.

## DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS LIBRES.

Método de Duncombe.

### Fundamento.

Se basa en la determinación colorimétrica de las sales de cobre formadas con los ácidos grasos libres presentes, las cuales son solubles en el cloroformo.

### MATERIAL.

#### Material biológico.

- Plasma heparinizado. (se usa como anticuagulante heparina )
- Mezcla incubada.

#### Material de laboratorio.

- Espectrofotometro. (Coleman Jr.)
- Celdillas para espectrofotómetro de 10 x 75 mm.
- Centrífuga.
- Tubos para centrífuga, de 15 ml
- Pipetas de vidrio de 1 ml y 5 ml
- Gradilla.

#### Material químico o reactivos.

- Cloroformo grado analítico.
- Solución # 1.- Patrón de ácido palmítico 0.5 mEq de ácidos grasos libres por litro.
- Solución # 2.- Nitrato de cobre 0.27 M en una solución amortiguadora de trietanolamina 0.45 M.
- Solución # 3.- Revelador de color. Dietiltiocarbamato 3.0 mM.



En tubos de centrifuga de 15 ml, convenientemente marcados, añadir de acuerdo con la siguiente tabla:

			Actividad lipolítica		Cinetica de la reacción *							
	Blanco	Patrón	pre-heparina	post-heparina	pre-heparina				post-heparina			
					1	2	3	4	5	6	7	8
Cloroformo.	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0				5.0			
Solución # 1	-	0.2	-	-	-				-			
Mezcla incubada	-	-	-	-	0.2				0.2			
Plasma pre-heparina	-	-	0.2	-	-				-			
Plasma post-heparina	-	-	-	0.2	-				-			
Solución # 2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0				1.0			
<p>- Agitar durante 5 minutos</p> <p>- Centrifugar para separar las fases</p> <p>- Extraer la fase acuosa (azul), incluyendo la capa de proteínas, (blanca)</p> <p>* En las series de la " Cinética de la reacción" se trabajan cada tubo independientemente, o sea a cada uno se le agrega 5 ml de cloroformo y los 0.2 ml de la mezcla del tubo correspondiente.</p> <p>- En tubos de 10 x 75 añadir:</p>												
Fase cloroformica	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0				2.0			
Solución # 3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2				0.2			
<p>- Agitar y reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente y leer en el espectrofotómetro a 435 nm.</p>												

CALCULOS.

$$\frac{E \text{ muestra}}{E \text{ patrón}} \times 0.5 = \text{mEq. / l de ácidos grasos libres.}$$

VALORES NORMALES. 0.09 - 0.6 mEq / l

#### IV RESULTADOS. Y GRAFICAS

En esta sección se presenta en tablas y gráficas los valores obtenidos en los tres grupos estudiados. Hay dos grupos de tablas, las correspondientes a la cinética de la reacción y las de la actividad lipolítica.

Las tablas representativas de la cinética de la reacción (TABLAS I, II, III ), están formadas por 9 columnas; la primera es una numeración ordinal para la identificación de los datos en las gráficas correspondientes, las siguientes numeradas 1,2,3 y 4 nos representan los valores de la cinética de la reacción enzimática en el plasma pre-heparina y las numeradas 5, 6,7 y 8 a la cinética del plasma post-heparina.

La ordenación de los valores se realizó con los datos de la columna # 1, la cual nos representa el valor inicial de la curva pre-heparina y para mayor claridad se colocaron en orden creciente, sin que necesariamente la columna # 5, que es el valor inicial de la curva post-heparina se encuentren en orden creciente.

Las gráficas nos muestran el aumento en la actividad enzimática con el correr del tiempo y tienen para su identificación el mismo número ordinal usado en la tabla correspondiente. ( gráficas 1 a la 12 ).

Las tablas de la actividad lipolítica ( TABLAS IV y V ), están formadas por tres columnas, la primera igual que las anteriores es una numeración ordinal y las dos columnas siguientes nos representan los valores de ácidos grasos presentes en el plasma pre-heparina y los liberados por la enzima en el plasma post-heparina. En las gráficas observamos de una manera mas clara el aumento en la actividad lipolítica. ( gráficas 13 a la 20 ).

En las tablas VI y VII se muestra la relación estadística de los tres grupos estudiados, en éstas, encontramos los valores de la media aritmética y la desviación estandar,

datos obtenidos para establecer la relación existente entre normales, hipertensos y arterioesclerosos, en las gráficas 21 y 25 se observa mas objetivamente las diferencias entre éstos y en las gráficas 22,23,24 y 26 los rangos de probabilidad de cada grupo.

Finalmente en la TABLA VIII se representa el estudio estadístico de relación de probabilidad entre los tres grupos, o sea el cálculo de "t" y "p". El objeto de ésta, es comparar si la media obtenida en cada uno de los tres casos se acerca al valor real establecido en los libros.

Cuando el número de casos es pequeño se usa la "t" ( t ratio o Student's t ) y nos representa la diferencia de medias entre la desviación estandar, una vez determinada "t" se busca al valor de "p" (probabilidad) en las tablas de distribución de "t". (35)

CINETICA DE LA REACCION DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA  
LIPOPROTEICA.

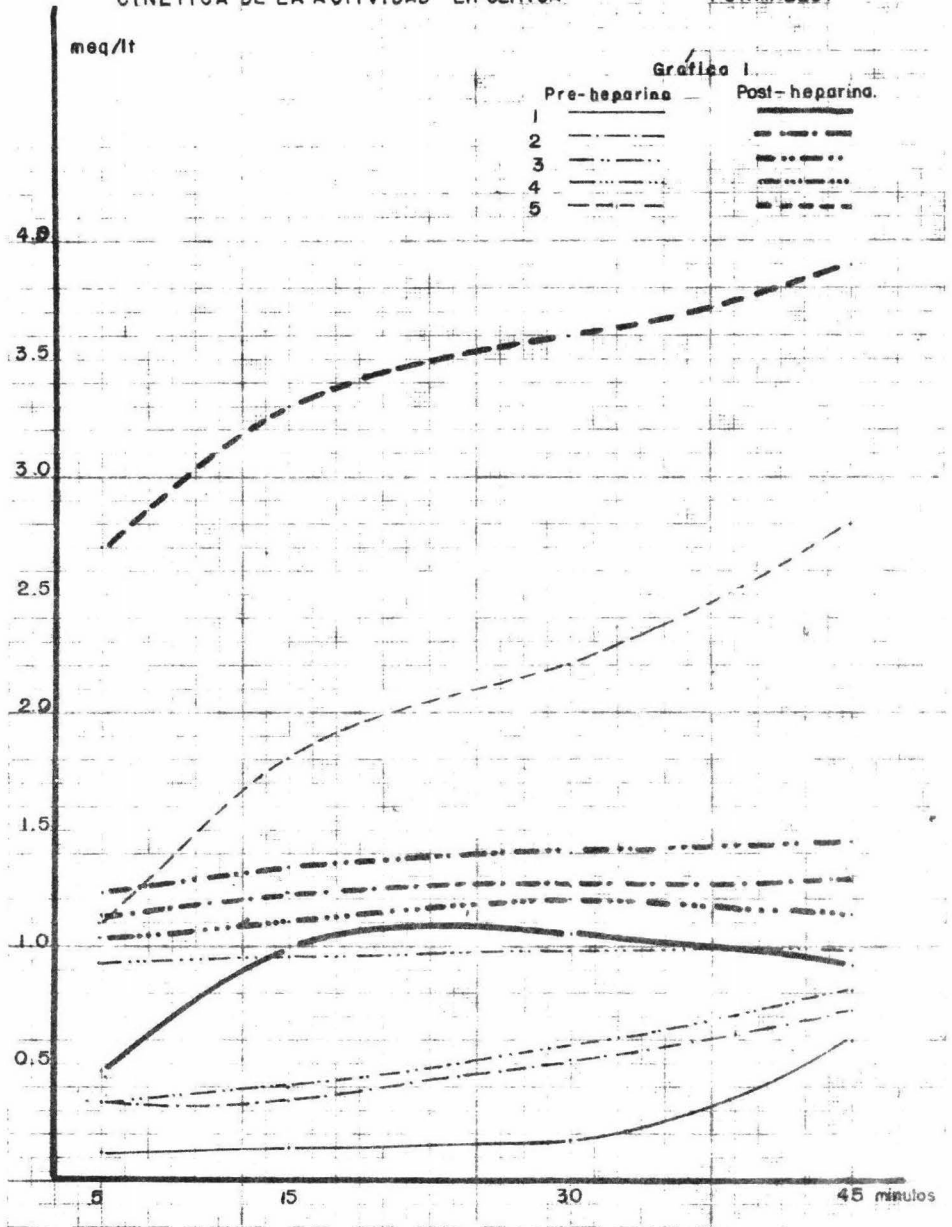
NORMALES ( JOVENES " CLINICAMENTE SANOS " )

TABLA I

Número.	PRE - HEPARINA				POST - HEPARINA			
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.13	0.15	0.18	0.60	0.46	1.00	1.06	0.73
2	0.33	0.37	0.51	0.81	1.14	1.22	1.25	1.29
3	0.33	0.40	0.55	0.93	1.33	1.34	1.40	1.45
4	0.93	0.95	0.98	0.98	1.03	1.10	1.20	1.13
5	1.10	1.80	2.20	2.80	2.70	3.30	3.60	3.90
6	1.12	1.23	1.84	2.01	2.20	2.43	2.56	2.80
7	1.23	1.30	1.38	1.45	1.30	1.48	1.50	1.55
8	1.40	2.40	2.80	2.60	1.50	2.20	2.54	2.73
9	1.42	2.20	2.30	2.60	2.30	2.45	2.60	2.80
10	1.80	1.90	2.30	2.60	2.20	2.80	3.00	3.40
11	1.80	2.10	2.50	2.50	1.90	2.20	2.50	2.60
12	1.80	2.20	2.50	2.55	2.50	2.65	2.70	2.60
13	1.87	1.97	2.24	2.24	2.50	2.50	2.60	2.75
14	2.00	2.10	2.50	2.40	2.20	2.40	2.50	2.60
15	2.00	2.20	2.25	2.29	2.10	2.20	2.40	2.50
16	2.05	2.13	2.23	2.40	2.20	2.25	2.29	2.35
17	2.20	2.30	2.40	2.60	2.50	2.60	2.60	2.70
18	2.25	2.30	2.45	2.50	2.40	2.50	2.50	2.65
19	2.34	2.37	2.44	2.56	2.60	2.66	2.95	3.30
20	2.50	2.55	2.70	2.85	2.75	2.75	2.90	3.10

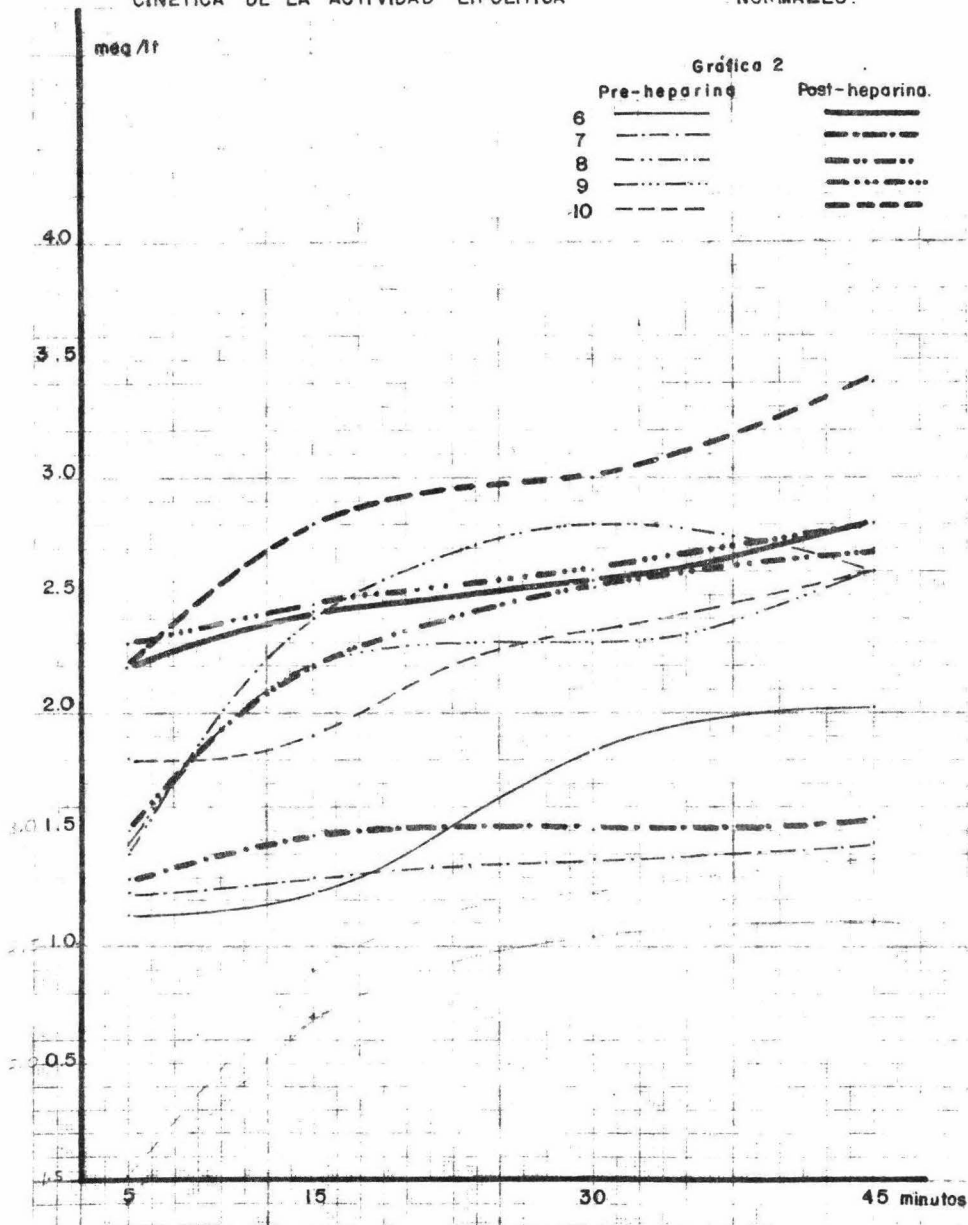
CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

NORMALES.



CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

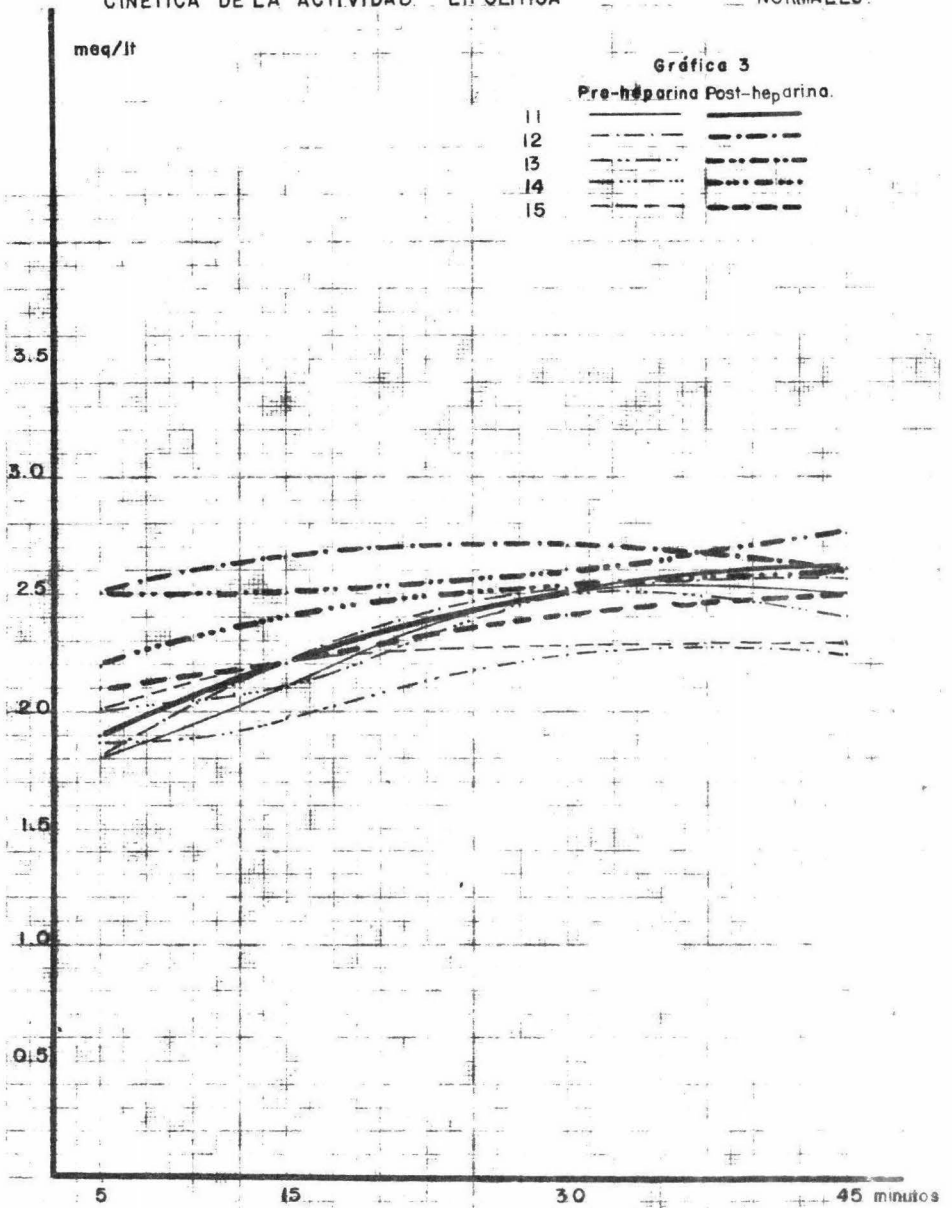
NORMALES.





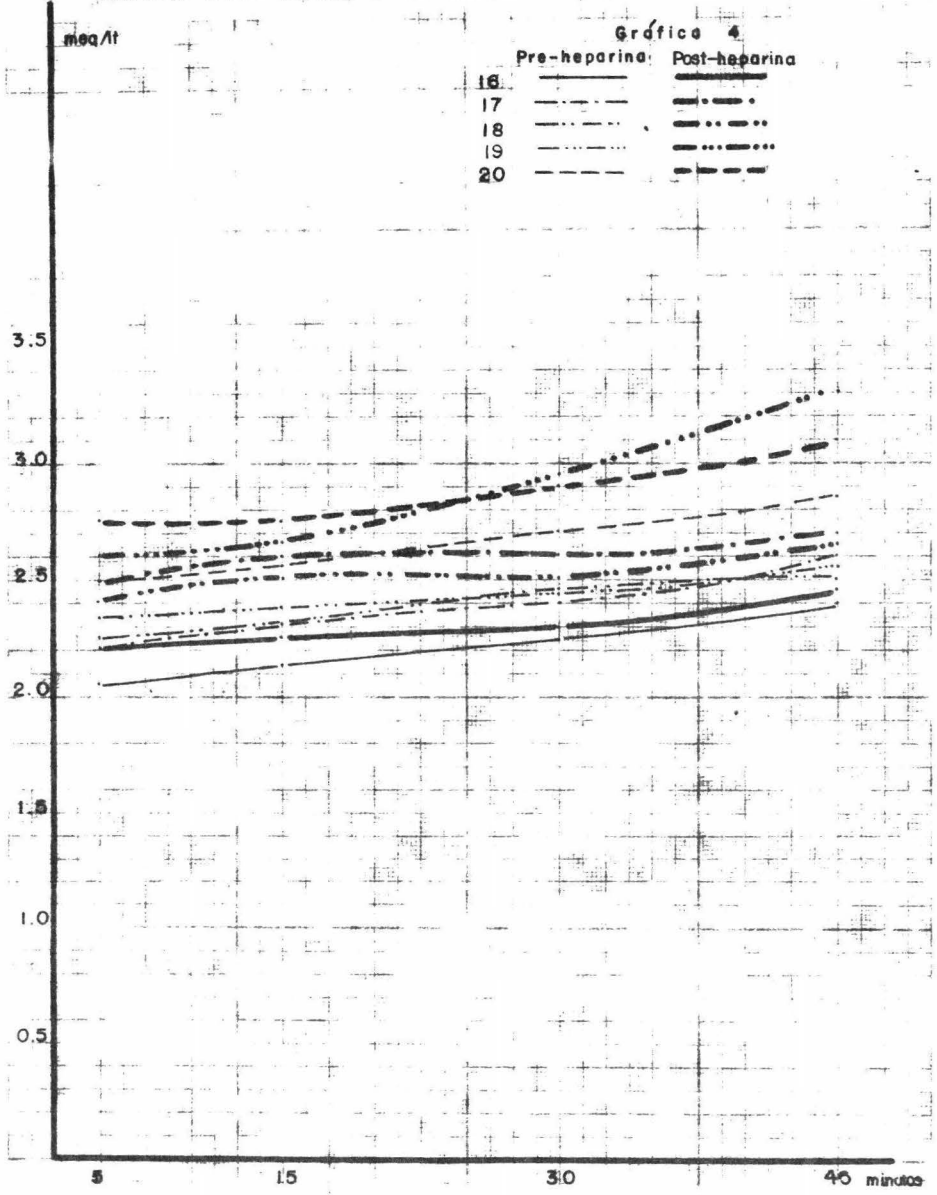
CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

NORMALES



CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

NORMALES.



CINETICA DE LA REACCION DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA  
LIPOPROTEICA.

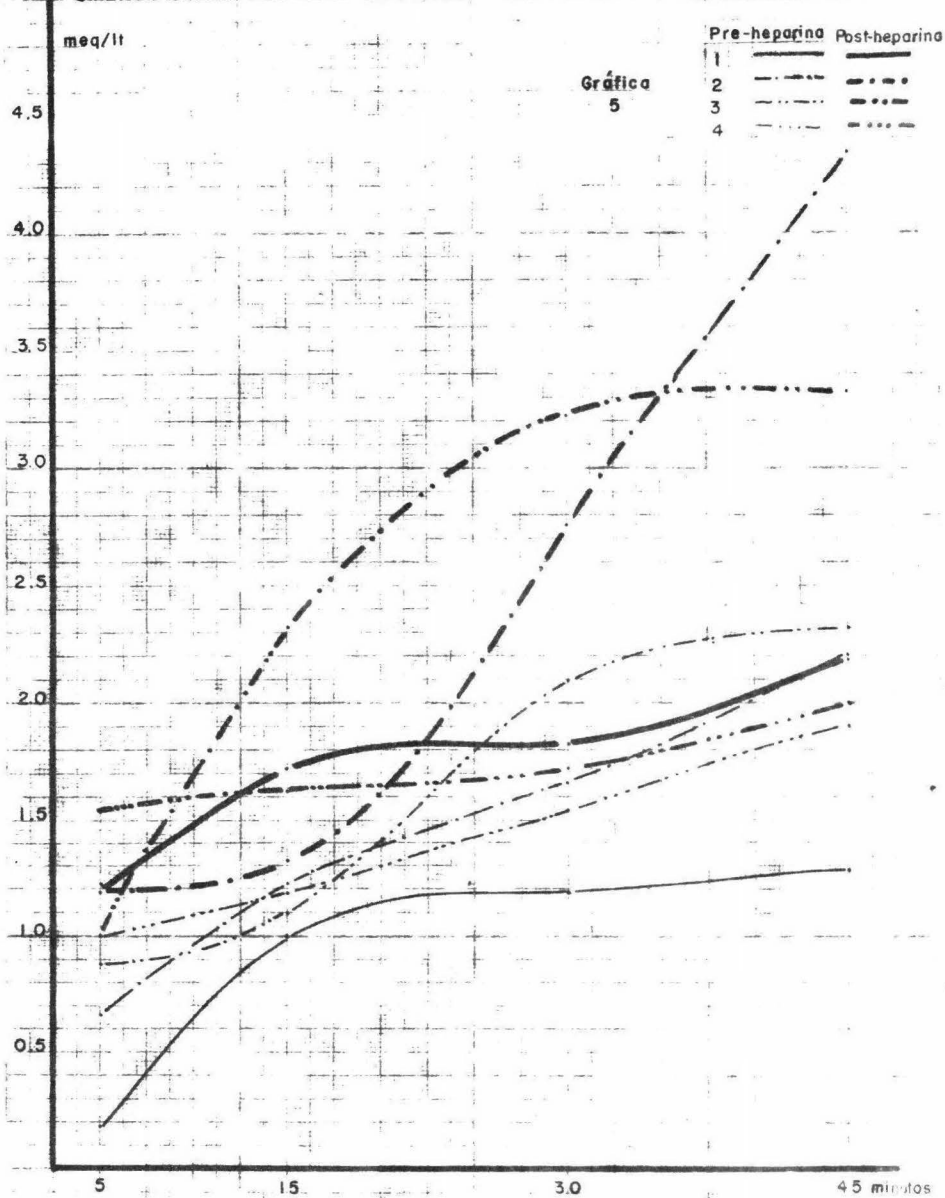
HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA

TABLE II

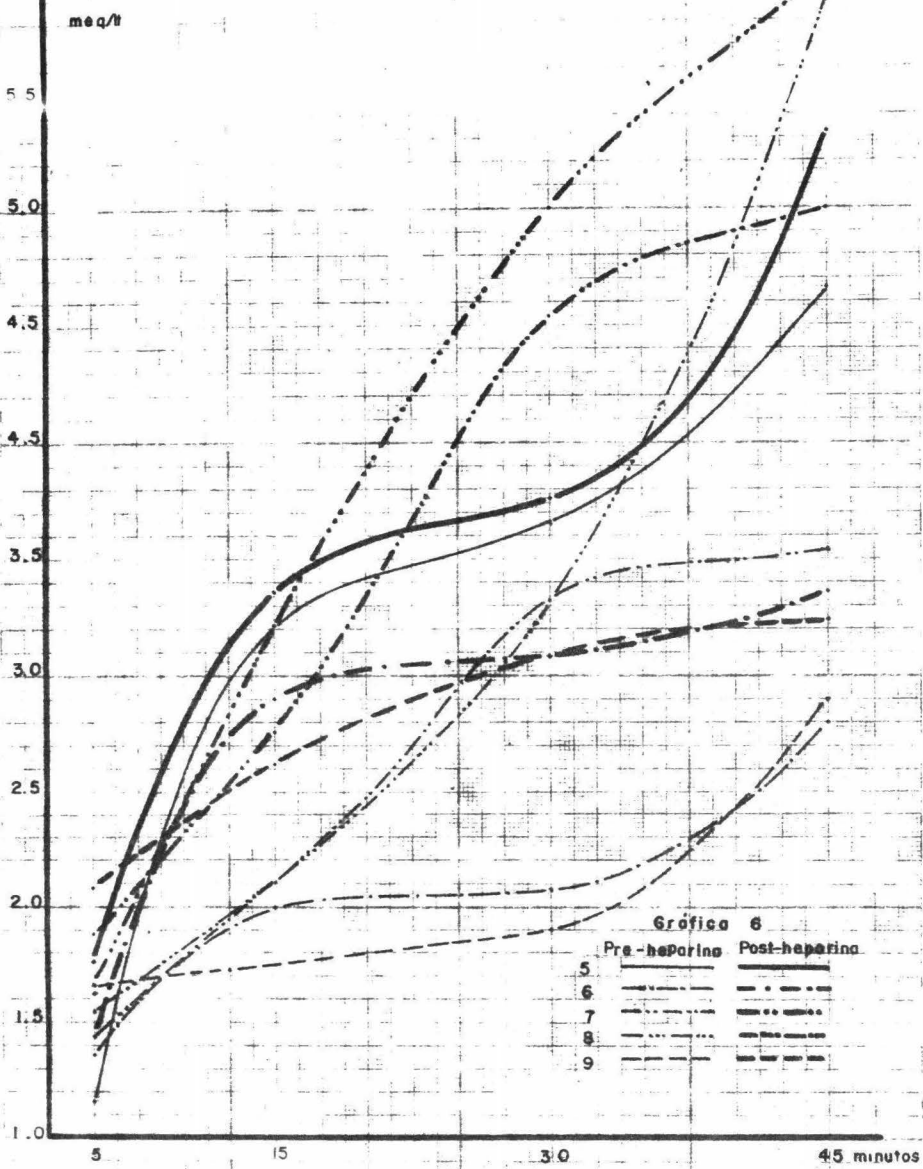
Número.	PRE - HEPARINA				POST - HEPARINA			
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.18	1.00	1.18	1.28	1.18	1.72	1.82	2.18
2	0.66	1.22	1.66	2.20	1.22	1.32	2.76	4.34
3	0.88	1.10	2.10	2.32	1.00	2.32	3.22	3.32
4	1.00	1.18	1.54	1.90	1.54	1.62	1.72	2.00
5	1.16	3.22	3.66	4.66	1.76	3.36	3.76	5.32
6	1.36	2.00	2.08	2.80	1.44	2.90	3.08	3.36
7	1.44	2.10	3.32	3.54	1.88	2.75	4.54	5.00
8	1.54	2.10	3.32	5.88	1.66	3.22	5.00	6.00
9	1.62	1.72	1.90	2.90	2.08	2.62	3.08	3.24
10	1.66	1.76	3.00	3.44	2.00	2.22	3.54	5.22
11	1.66	1.88	2.66	4.32	2.54	3.10	3.66	4.54
12	1.70	2.30	2.30	1.90	2.40	2.50	2.70	2.60
13	1.76	3.10	4.44	4.66	2.00	3.76	4.54	5.10
14	1.90	2.26	2.26	3.00	1.90	2.30	2.80	4.26
15	2.00	2.36	2.54	3.36	3.44	3.90	4.08	4.26
16	2.08	2.54	2.62	2.90	2.48	3.18	4.18	3.28
17	2.26	2.36	2.74	2.96	2.26	2.56	2.90	3.14
18	2.32	2.66	3.00	2.66	2.44	2.76	3.22	2.76
19	2.40	2.60	2.70	2.90	2.40	2.70	3.50	3.60
20	2.44	2.66	4.00	3.22	2.54	3.10	4.56	4.32

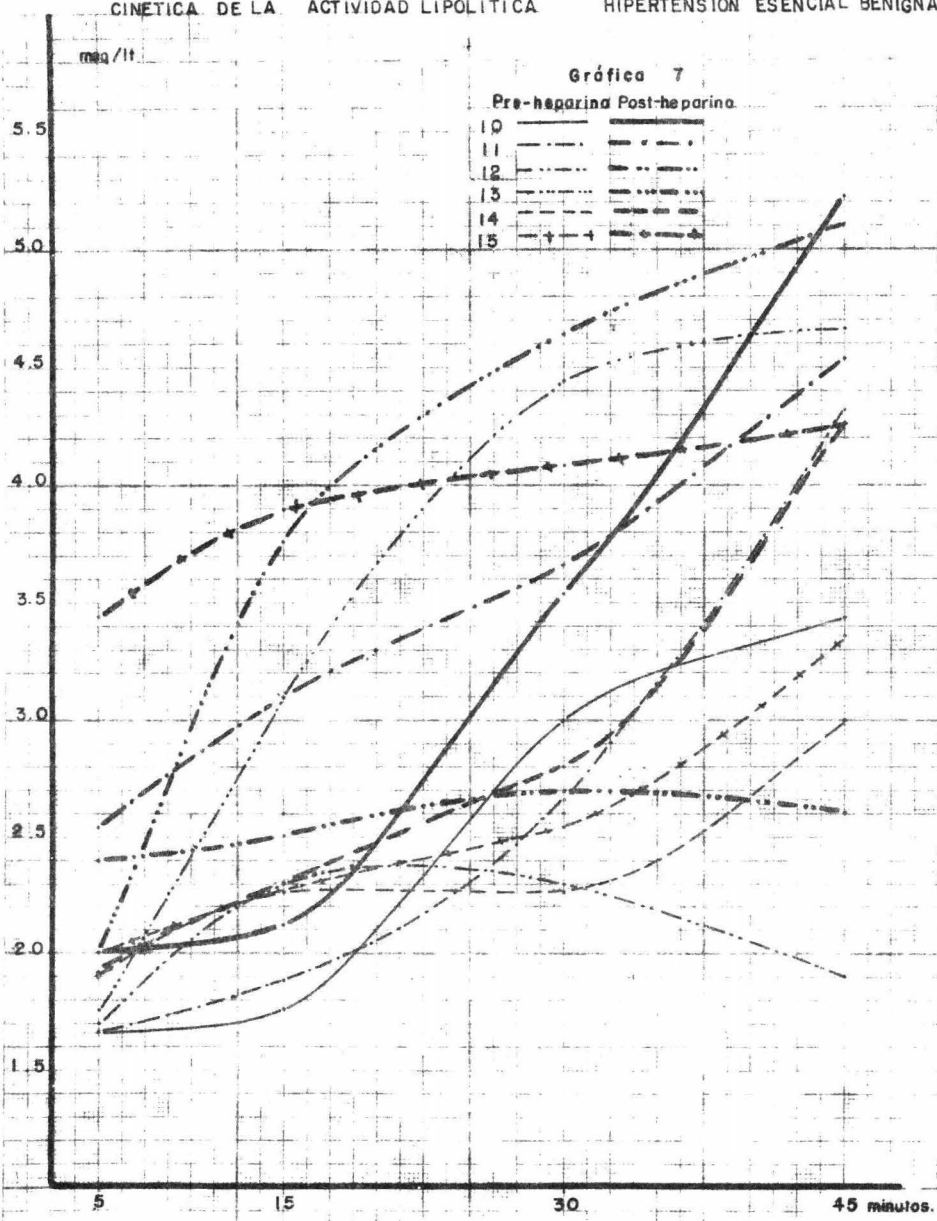
CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

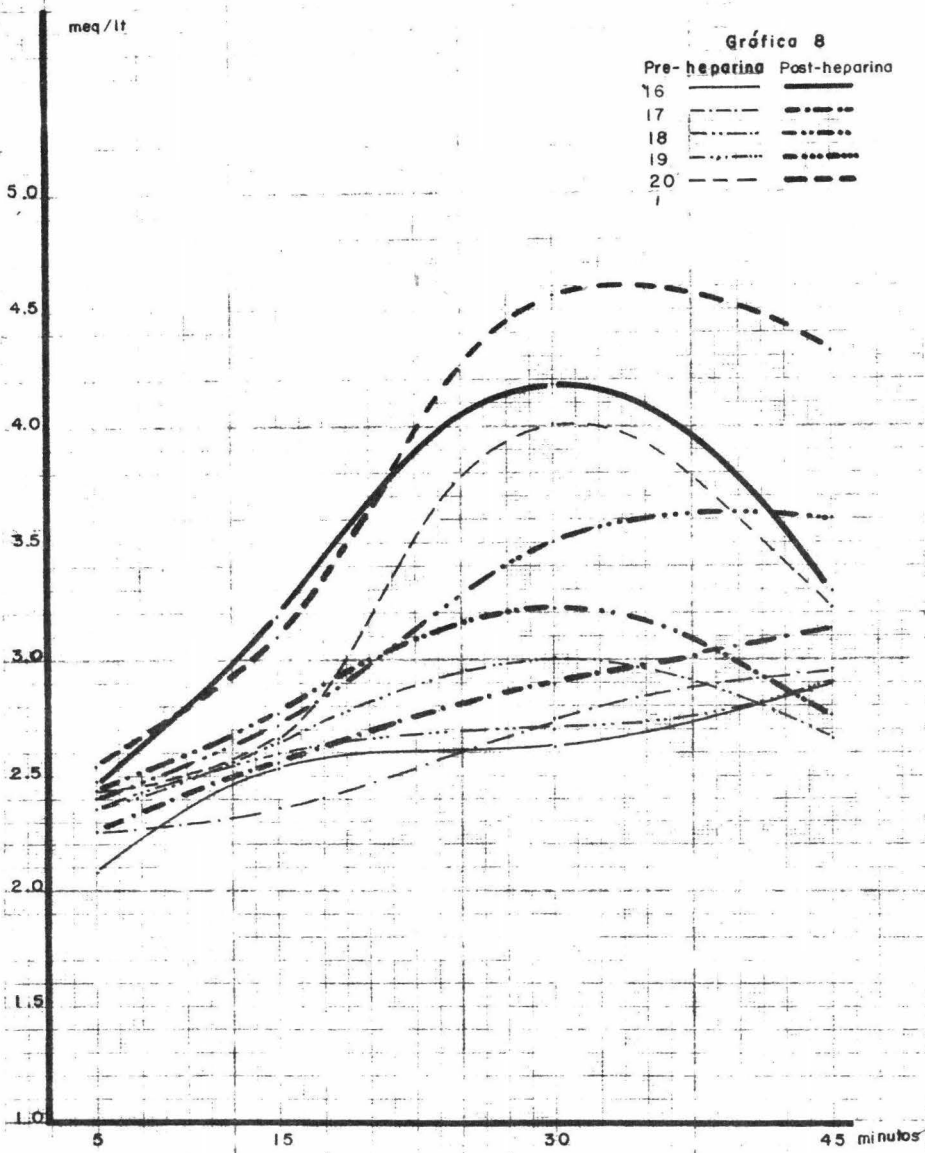
HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA



6.0 GINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA.







CINETICA DE LA REACCION DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA  
LIPOPROTEICA.

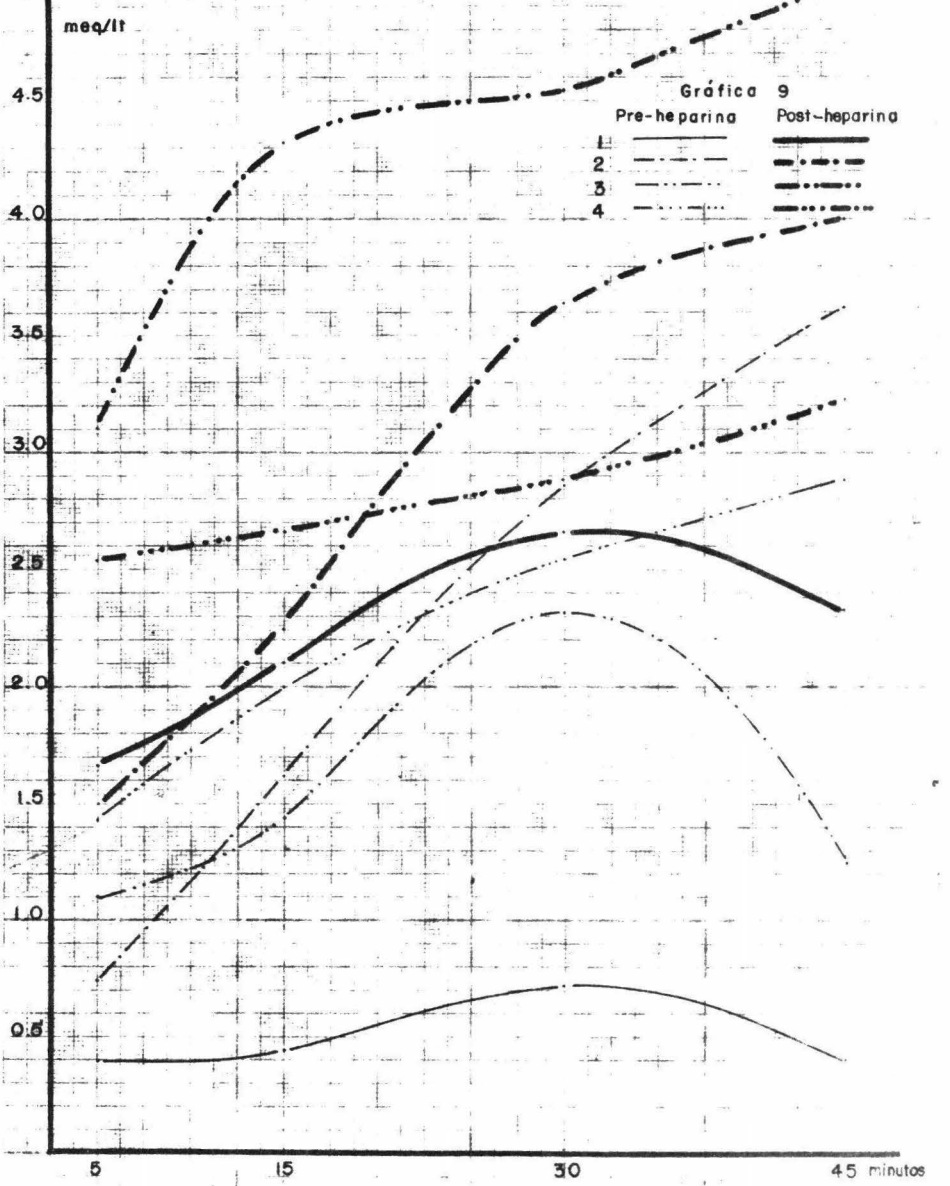
ARTERIOESCLEROSIS

TABLA III

Número.	PRE - HEPARINA				POST - HEPARINA			
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.40	0.44	0.72	0.40	1.66	2.10	2.66	2.32
2	0.74	1.62	2.86	3.62	1.50	2.24	3.62	4.00
3	1.10	1.44	2.32	1.22	3.10	4.32	4.54	5.22
4	1.44	2.00	2.54	2.88	2.54	2.66	2.88	3.22
5	1.54	1.66	2.22	3.66	4.66	5.76	6.10	6.44
6	1.66	2.00	2.10	1.76	1.76	2.66	3.00	2.76
7	2.22	2.44	2.88	2.66	3.22	3.66	4.00	4.10
8	2.54	3.10	3.22	3.44	3.10	4.76	6.22	6.66
9	2.80	3.10	3.32	3.22	3.76	4.22	4.66	4.76
10	3.20	3.20	4.60	5.00	4.60	5.00	5.30	6.20
11	3.32	3.54	3.68	4.00	3.76	3.76	4.88	4.44
12	3.66	4.88	5.88	5.44	5.88	6.00	6.32	6.10
13	3.88	4.54	5.00	5.22	5.00	5.54	5.88	6.44
14	4.44	4.06	5.10	5.32	5.66	6.32	6.44	6.66
15	4.74	5.62	6.36	5.00	5.36	5.36	5.58	5.50
16	4.88	5.10	6.10	6.88	5.32	5.54	6.32	7.14
17	5.00	5.20	5.44	5.66	6.88	7.00	7.66	7.94
18	5.44	5.54	5.76	5.88	6.76	7.10	7.22	7.54
19	5.54	6.10	6.76	8.22	6.88	7.54	8.32	9.10
20	6.24	6.36	6.50	6.24	7.12	7.74	8.00	7.62

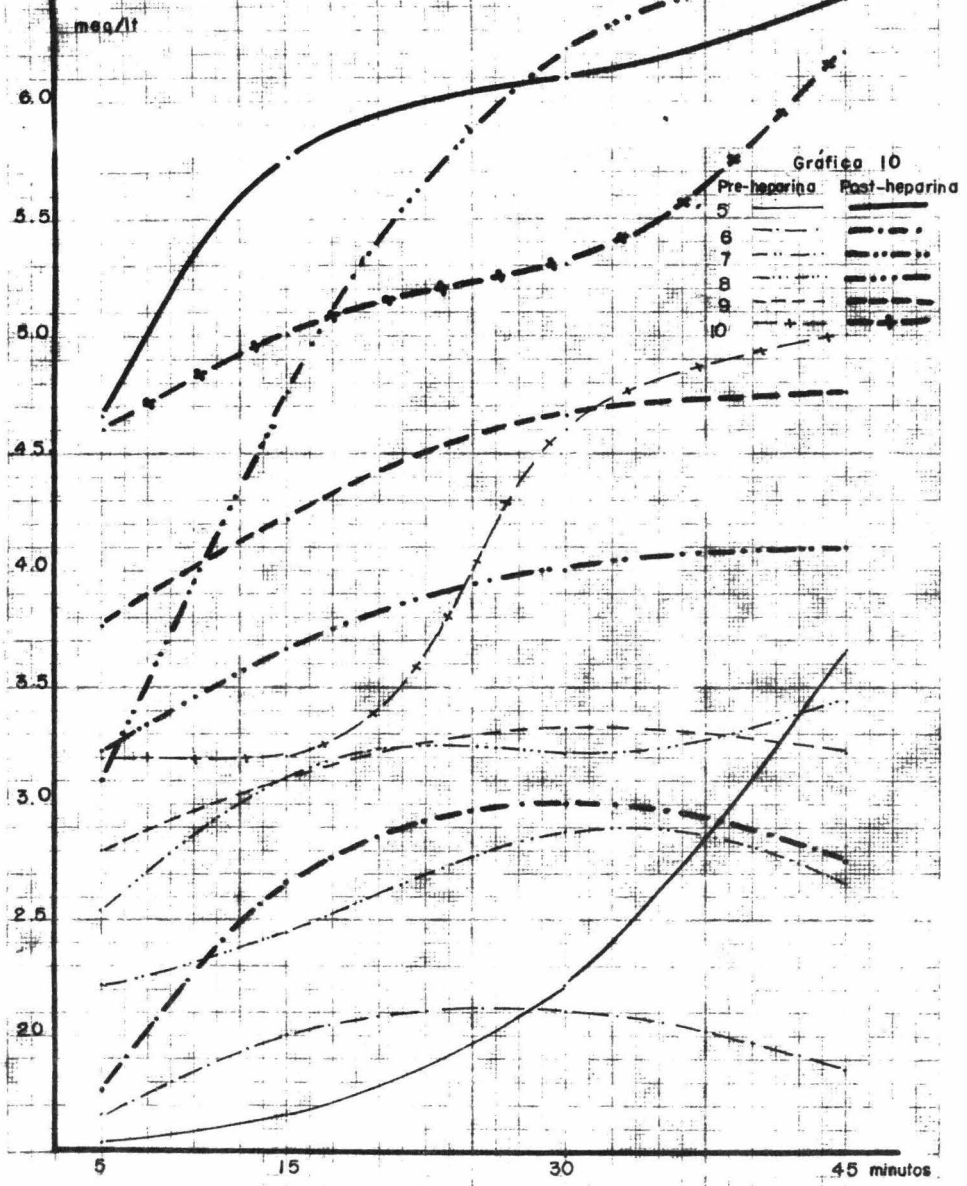


CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA ARTERIOESCLEROSIS.



CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

ARTERIOESCLEROSIS.



CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

ARTERIOESCLEROSIS

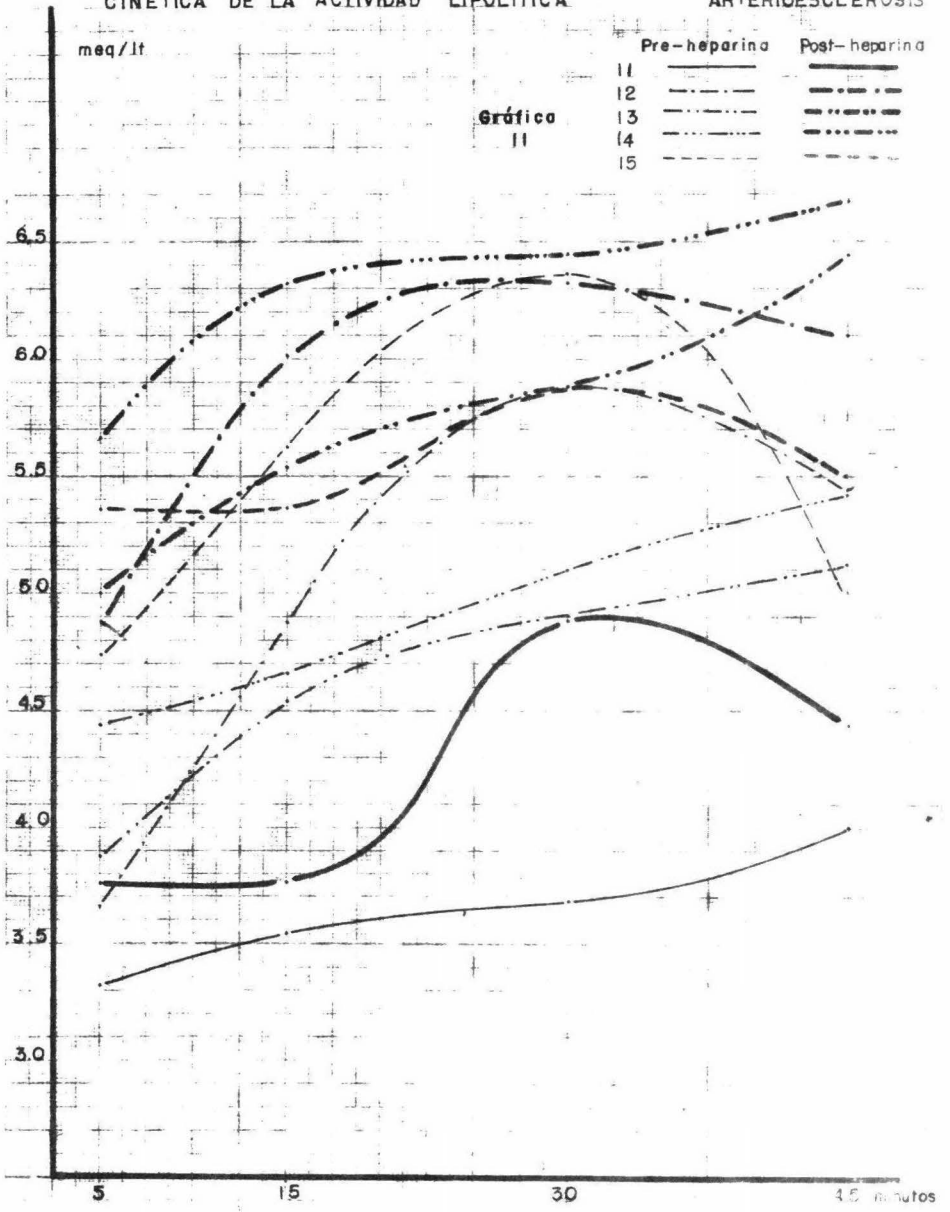


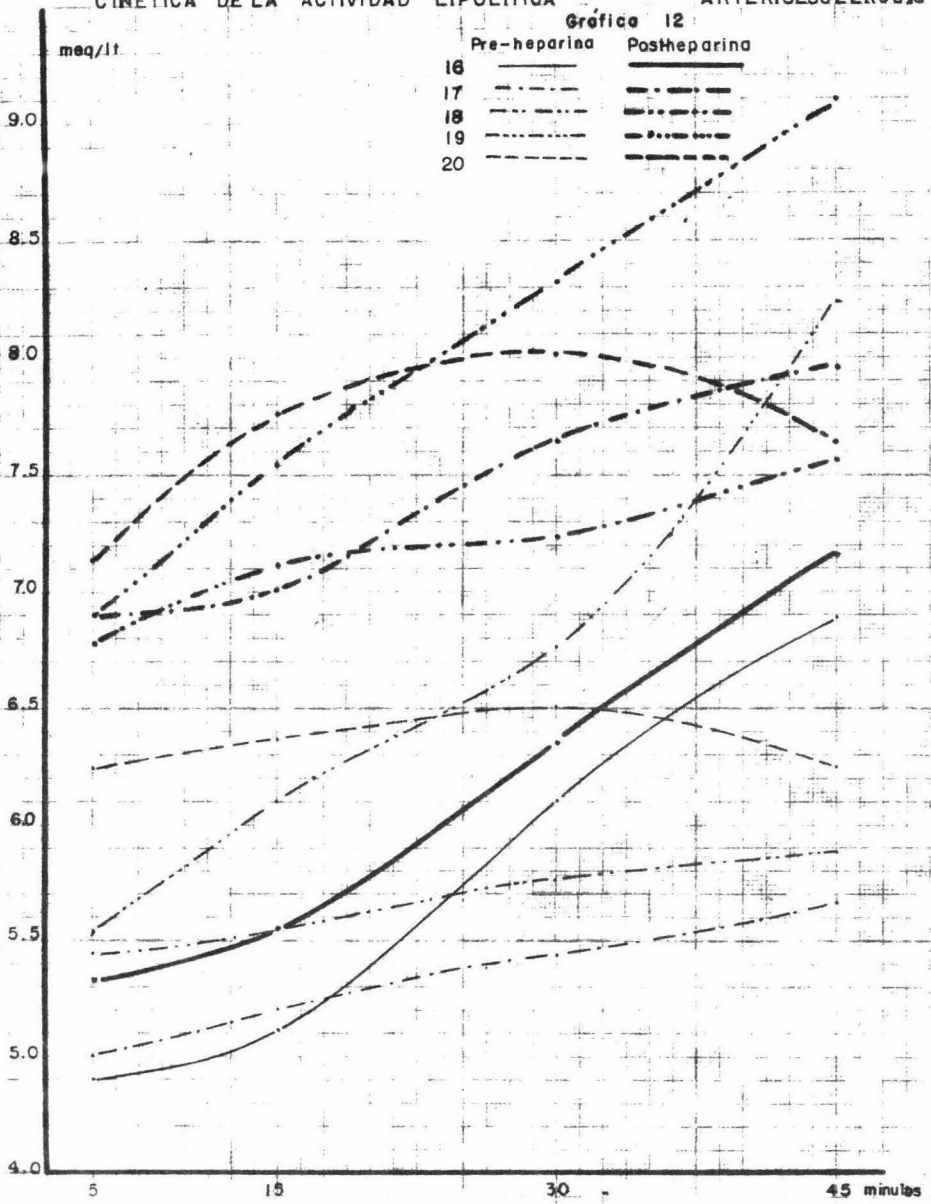
Gráfico 11

	Pre-heparina	Post-heparina
11	—	- - -
12	—	- - -
13	—	- - -
14	—	- - -
15	—	- - -

CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

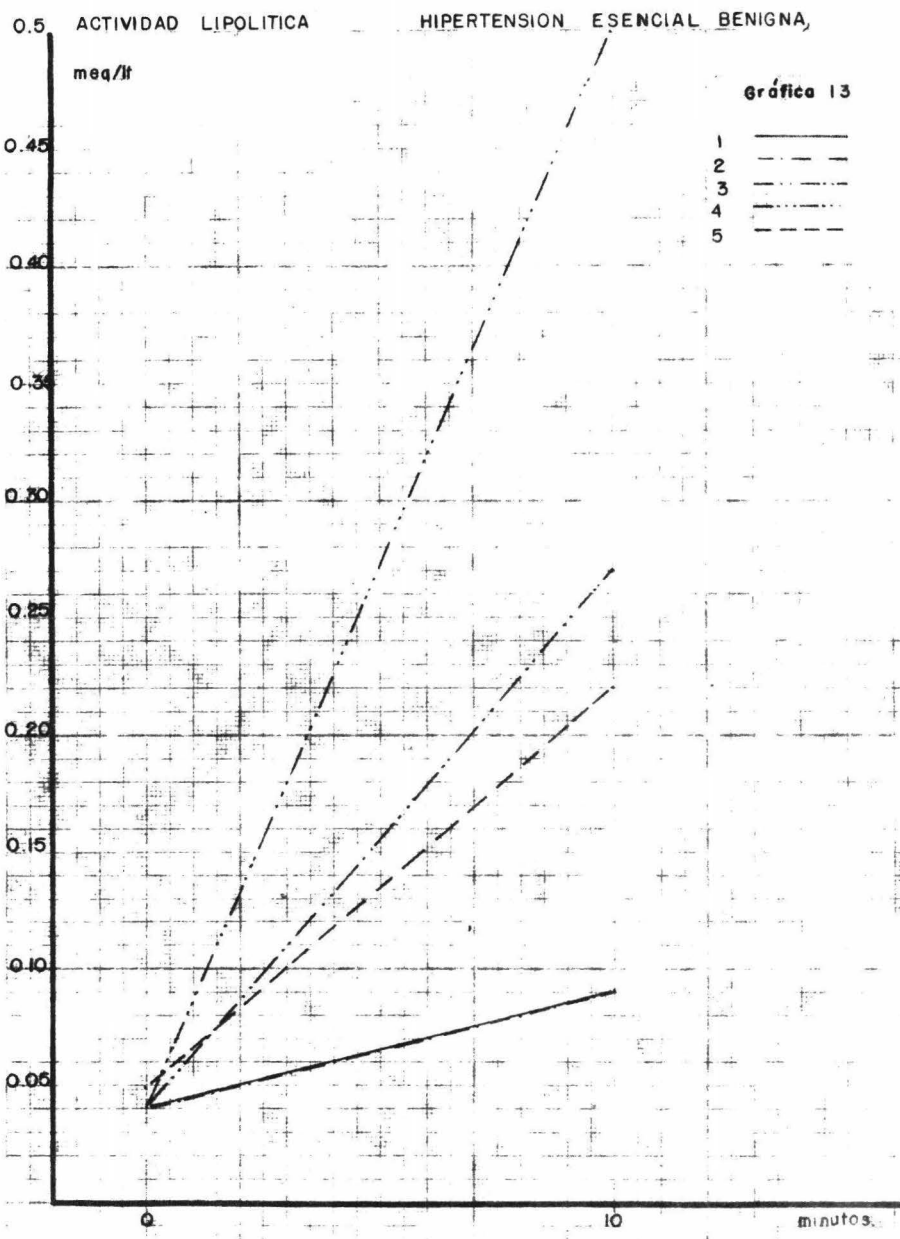
ARTERIOESCLEROSIS

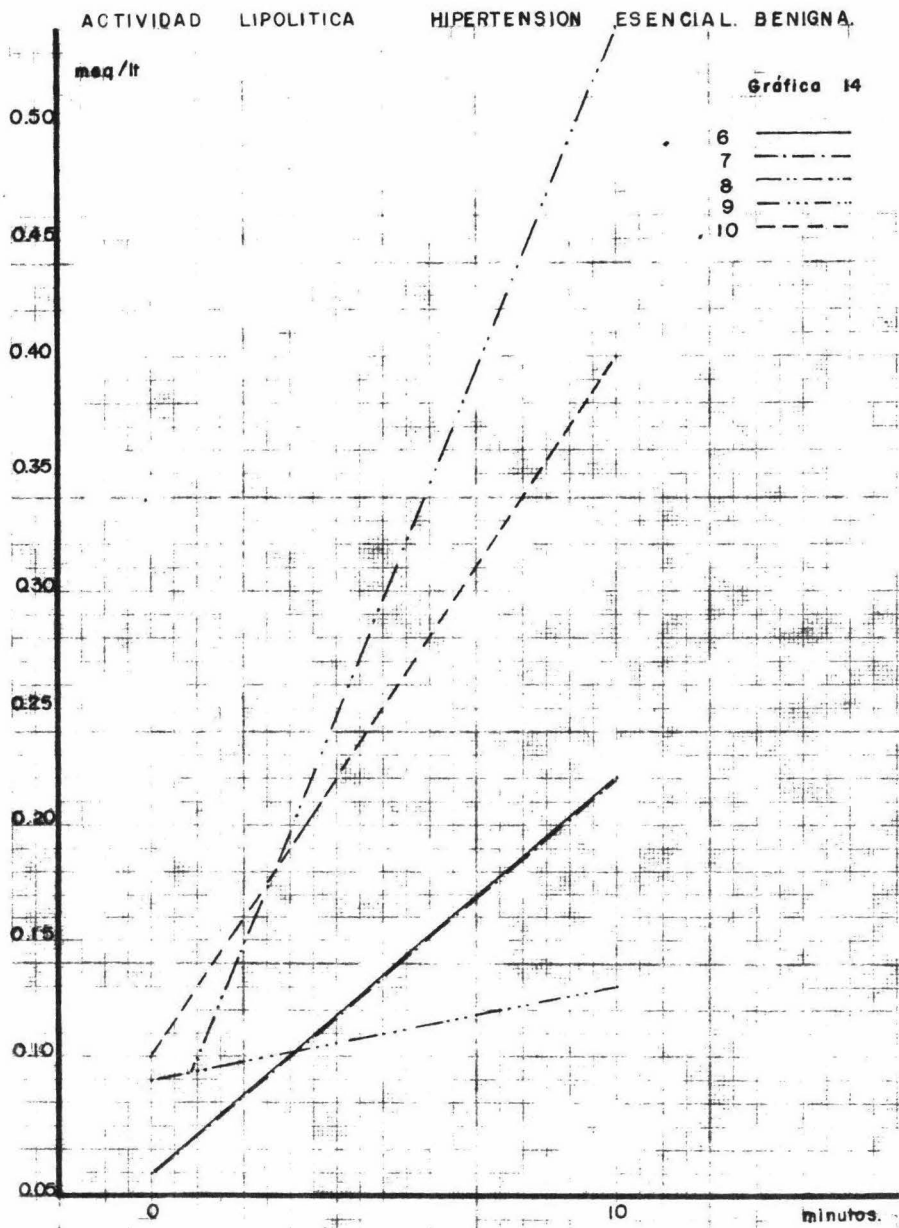
Gráfica 12

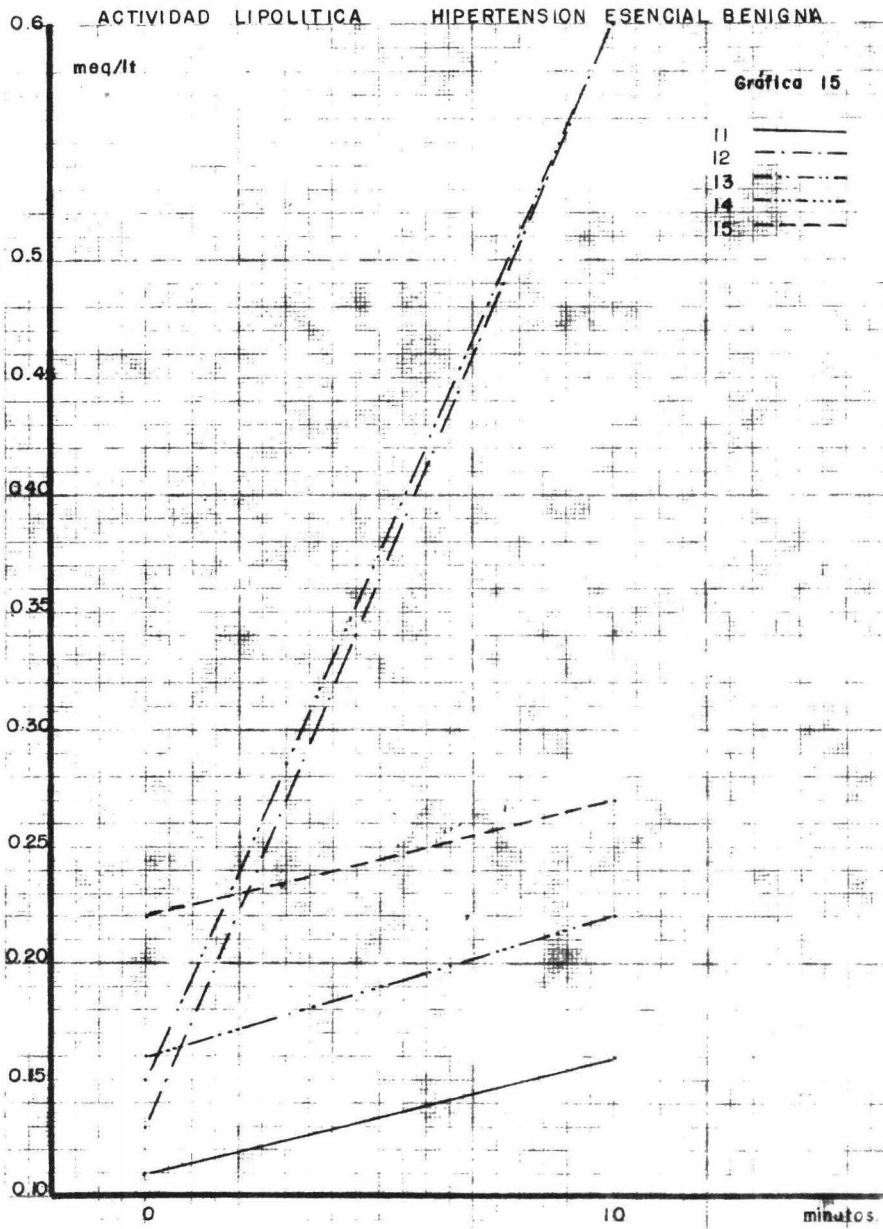


ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA LIPOPOTEICA " IN VIVO "

HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA.		TABLA IV
Número.	Normal $\odot$ pre-heparina.	post-heparina
1	0.04	0.09
2	0.04	0.09
3	0.04	0.27
4	0.04	0.50
5	0.05	0.22
6	0.05	0.22
7	0.05	0.22
8	0.05	0.54
9	0.09	0.13
10	0.10	0.40
11	0.11	0.16
12	0.13	0.60
13	0.15	0.60
14	0.16	0.22
15	0.22	0.27
16	0.27	0.72
17	0.33	0.83
18	0.36	0.40
19	0.44	0.72
20	0.95	1.18

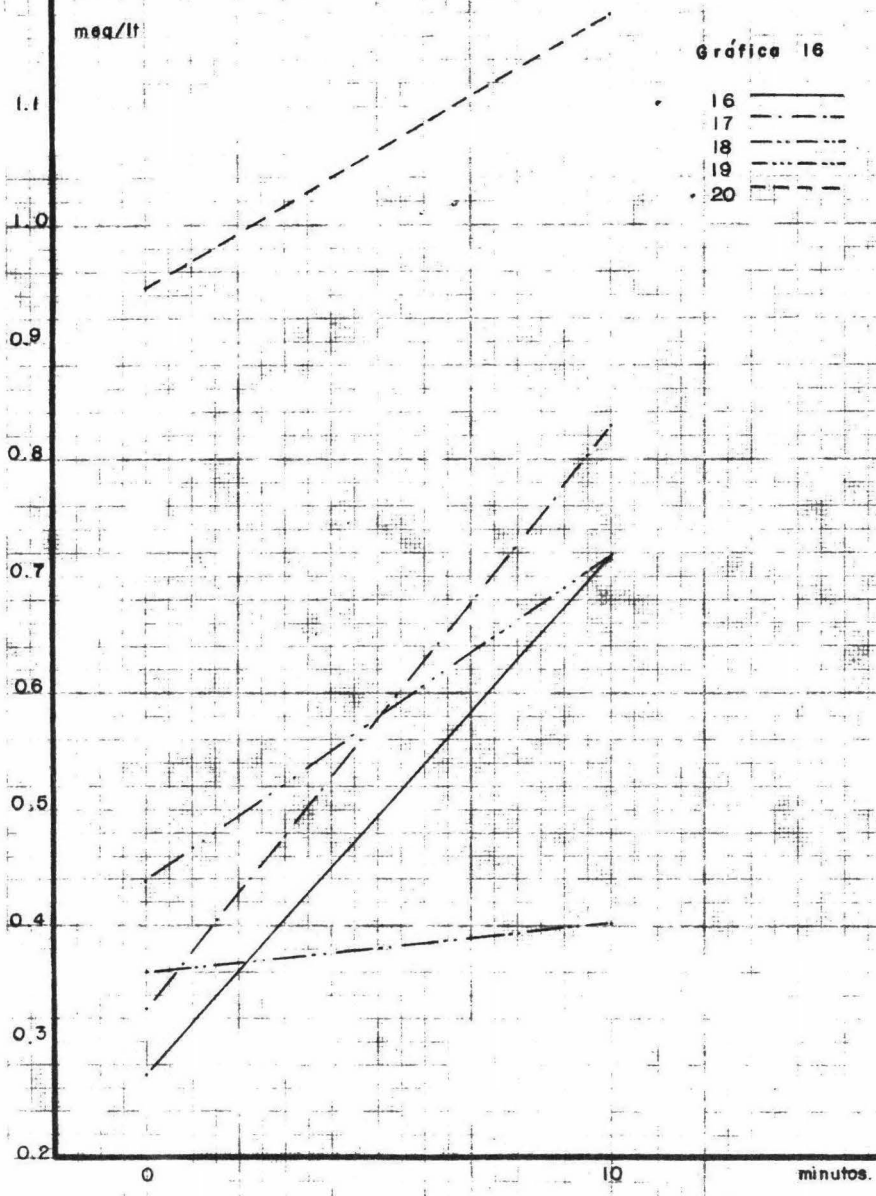








ACTIVIDAD LIPOLITICA HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA.

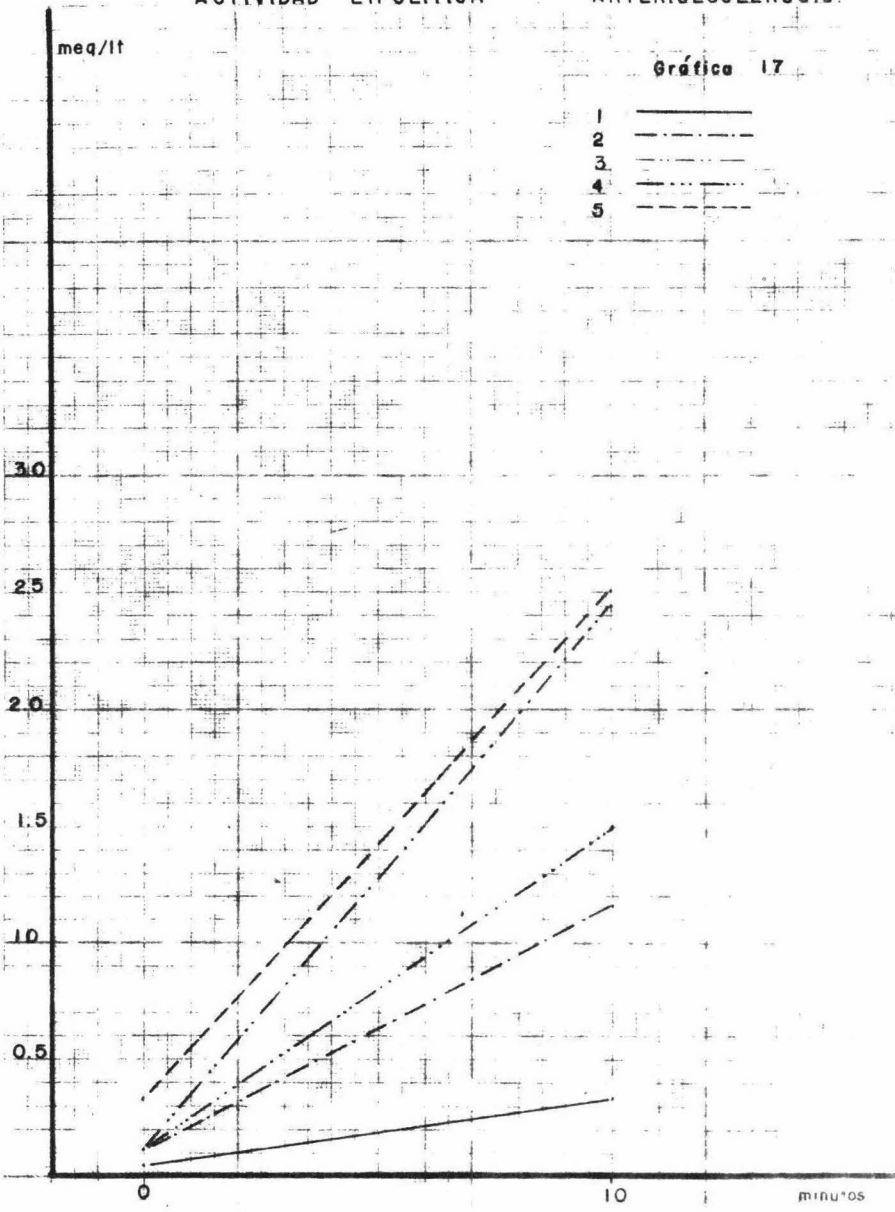


ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPASA LIPOPROTEICA " IN VIVO "

ARTERIOESCLEROSIS.		TABLA V	
Número.	Normal o pre-heparina	post-heparina.	
1	0.05	0.33	
2 2	0.11	1.16	
3	0.11	2.44	
4	0.11	1.50	
5	0.33	2.50	
6	0.38	3.83	
7	0.44	3.55	
8	0.56	2.25	
9	0.75	4.43	
10	0.77	3.27	
11	0.83	1.50	
12	0.83	1.61	
13	0.83	4.44	
14	0.87	4.31	
15	0.88	1.94	
16	0.88	4.33	
17	1.00	3.55	
18	1.27	2.44	
19	1.38	2.50	
20	2.22	4.22	

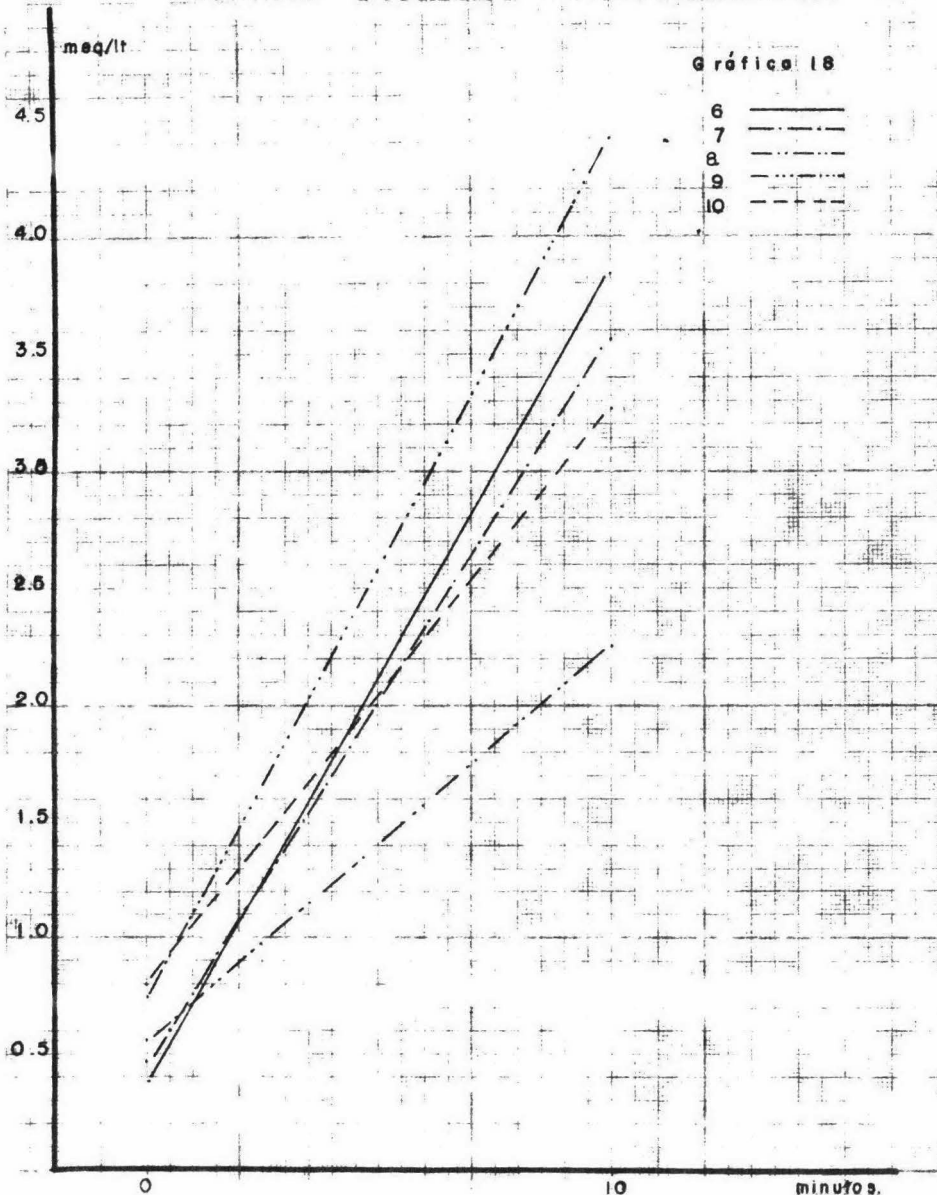
ACTIVIDAD LIPOLITICA

ARTERIOESCLEROSIS.

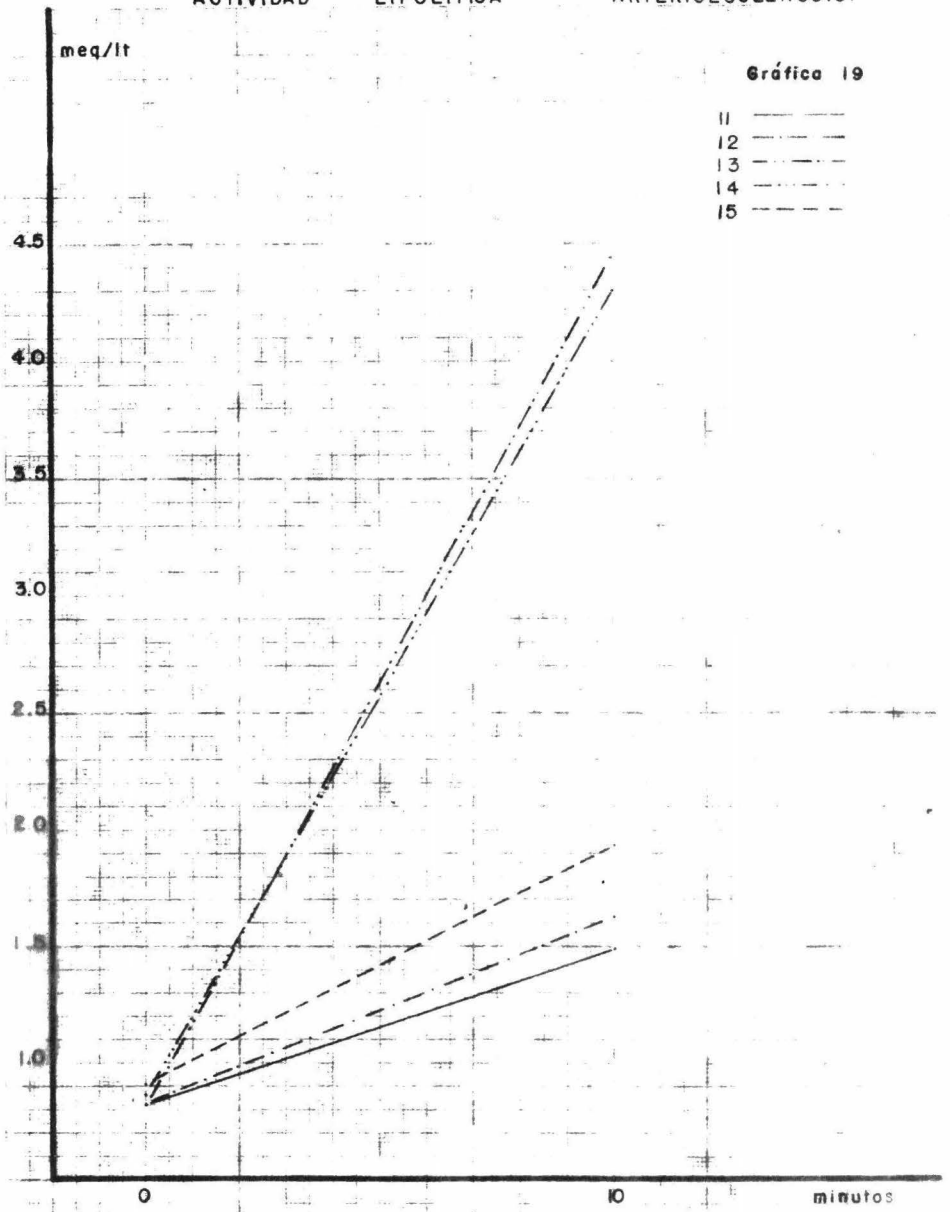


ACTIVIDAD LIPOLITICA

ARTERIOESCLEROSIS



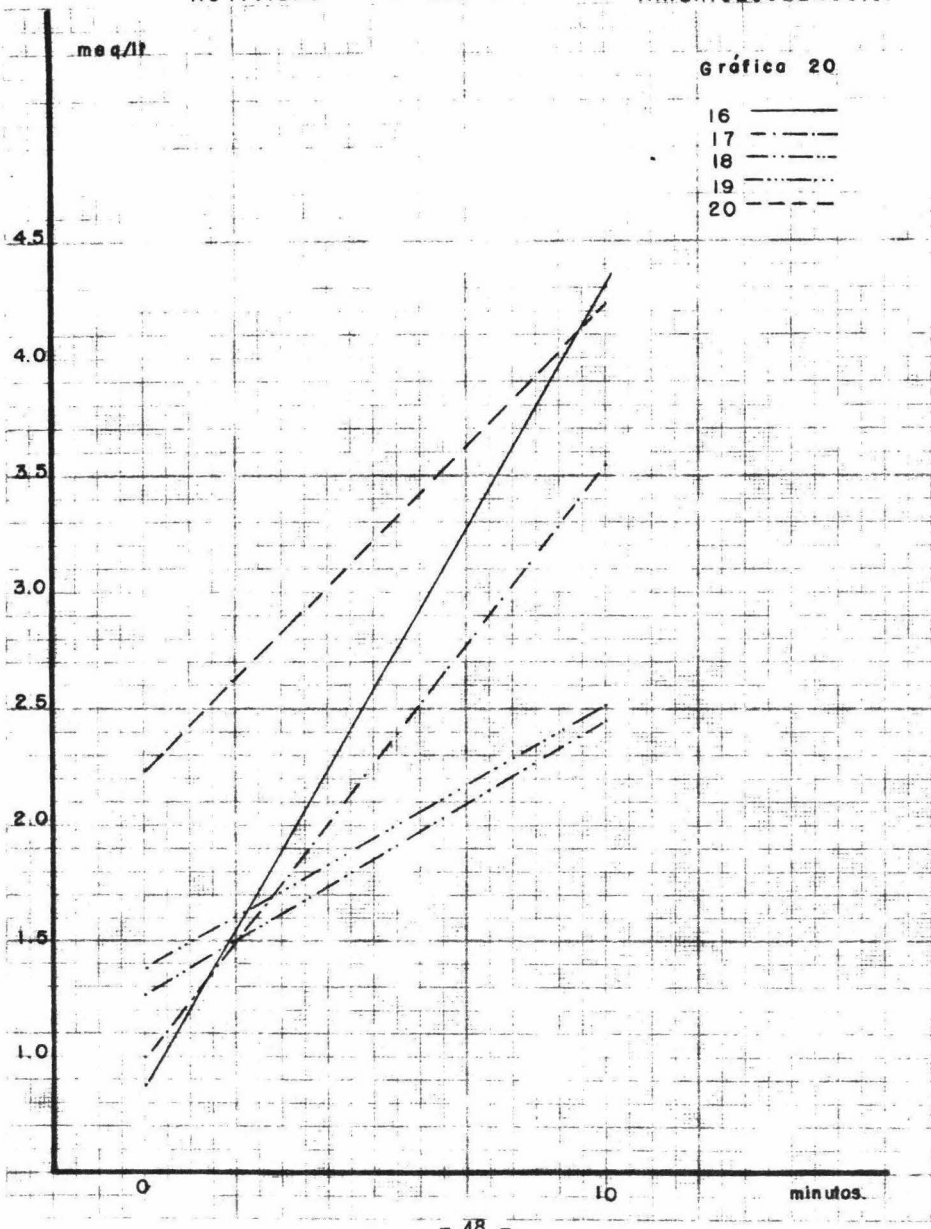
ACTIVIDAD LIPOLITICA ARTERIOESCLEROSIS.



ACTIVIDAD

LIPOLITICA

ARTERIOESCLEROSIS.



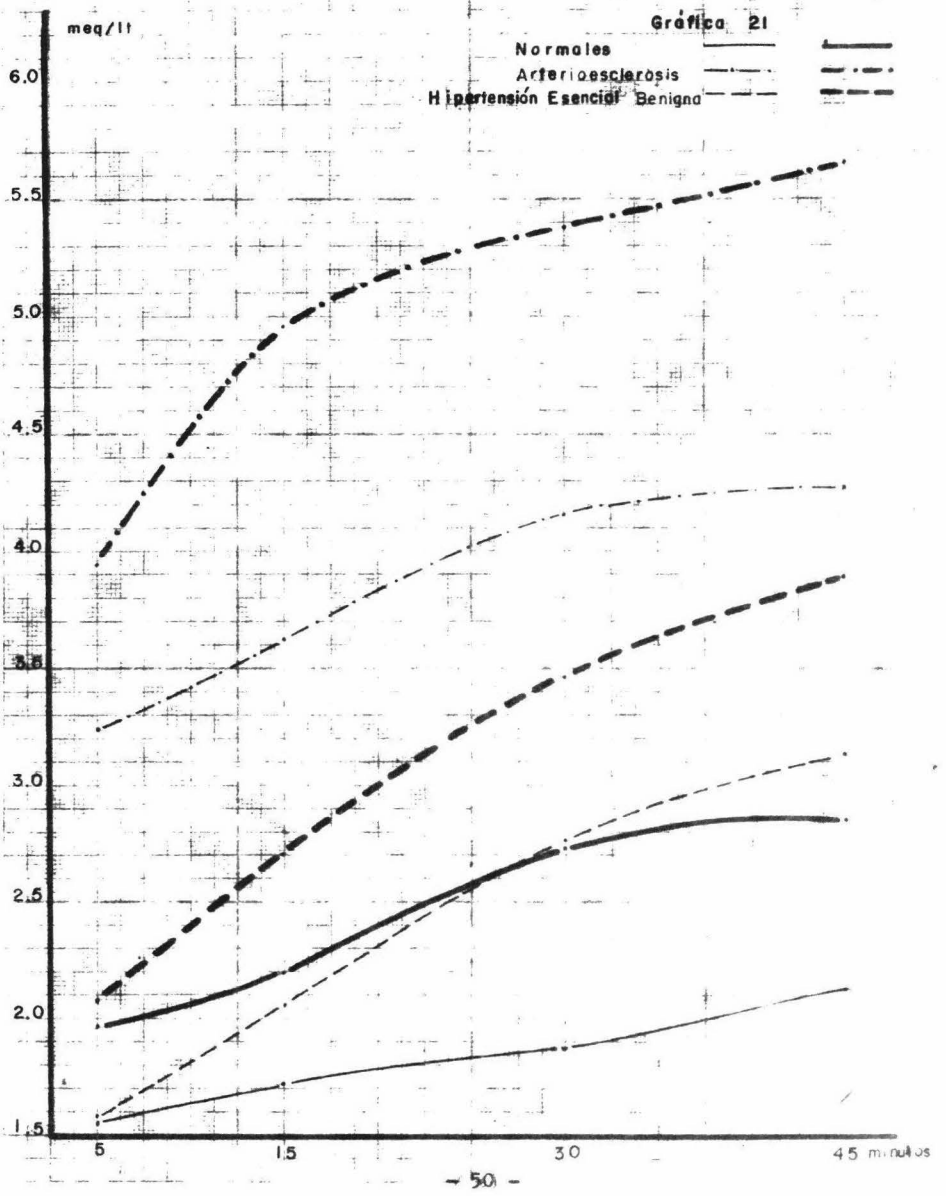
RELACION DE VALORES MEDIOS DE LA CINETICA DE REACCION  
DE LA ENZIMA LIPASA LIPOPROTEICA.

NORMALES

Tabla VI

	1	2	3	4	5	6	7	8
MEDIA ARITMETICA.	1.53	1.74	1.98	2.12	1.98	2.20	2.74	2.85
DESVIACION ESTANDAR	0.58	0.58	0.62	0.59	0.54	0.44	0.51	0.63
HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA.								
MEDIA ARITMETICA	1.59	2.06	2.76	3.14	2.08	2.70	3.48	2.89
DESVIACION ESTANDAR	0.46	0.51	0.64	0.73	0.44	0.51	0.70	0.94
ARTERIOESCLEROSIS								
MEDIA ARITMETICA	3.24	3.63	4.17	4.26	3.92	4.96	5.48	5.68
DESVIACION ESTANDAR	1.47	1.42	1.48	1.46	1.56	1.43	1.37	1.50

RELACION DE VALORES MEDIOS DE LA CINÉTICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLÍTICA

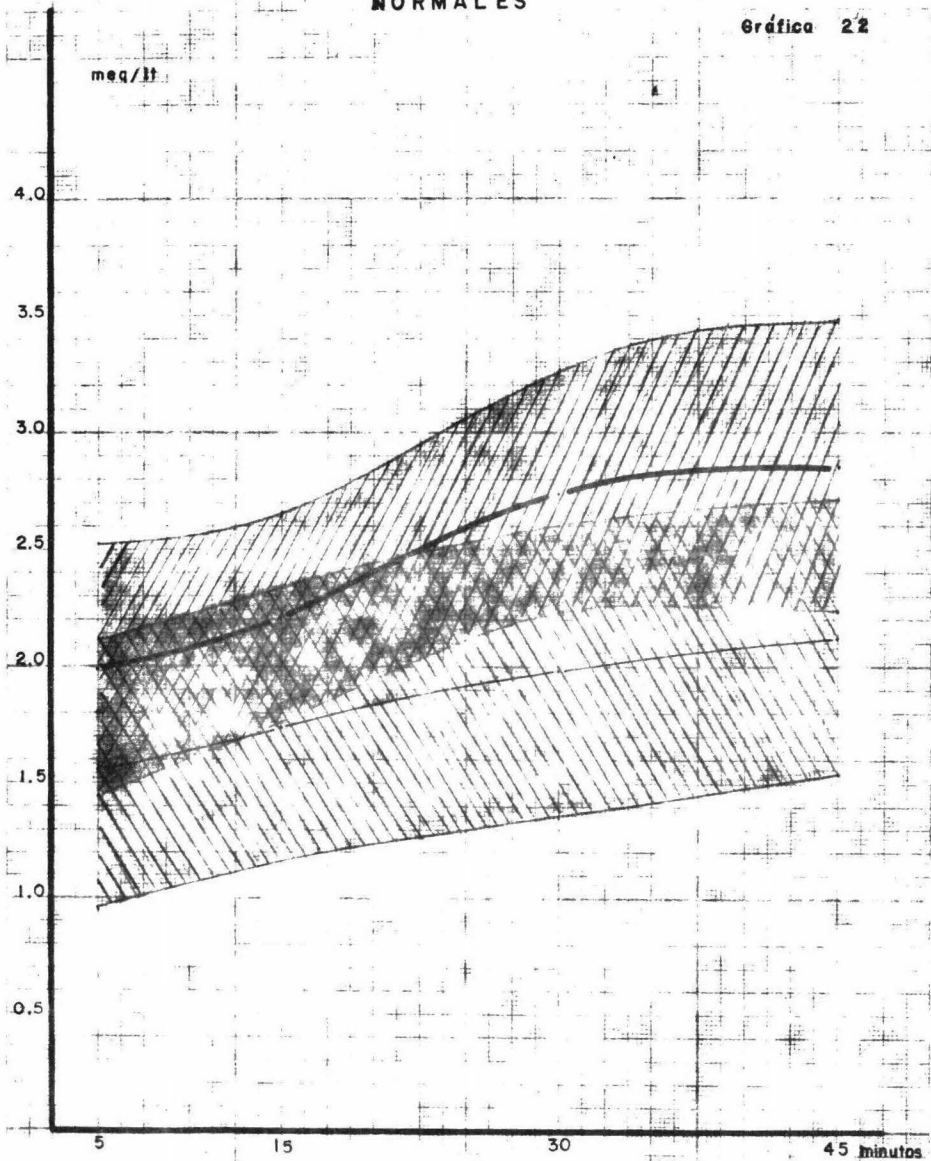




DESVIACION MEDIA DE LA CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

NORMALES

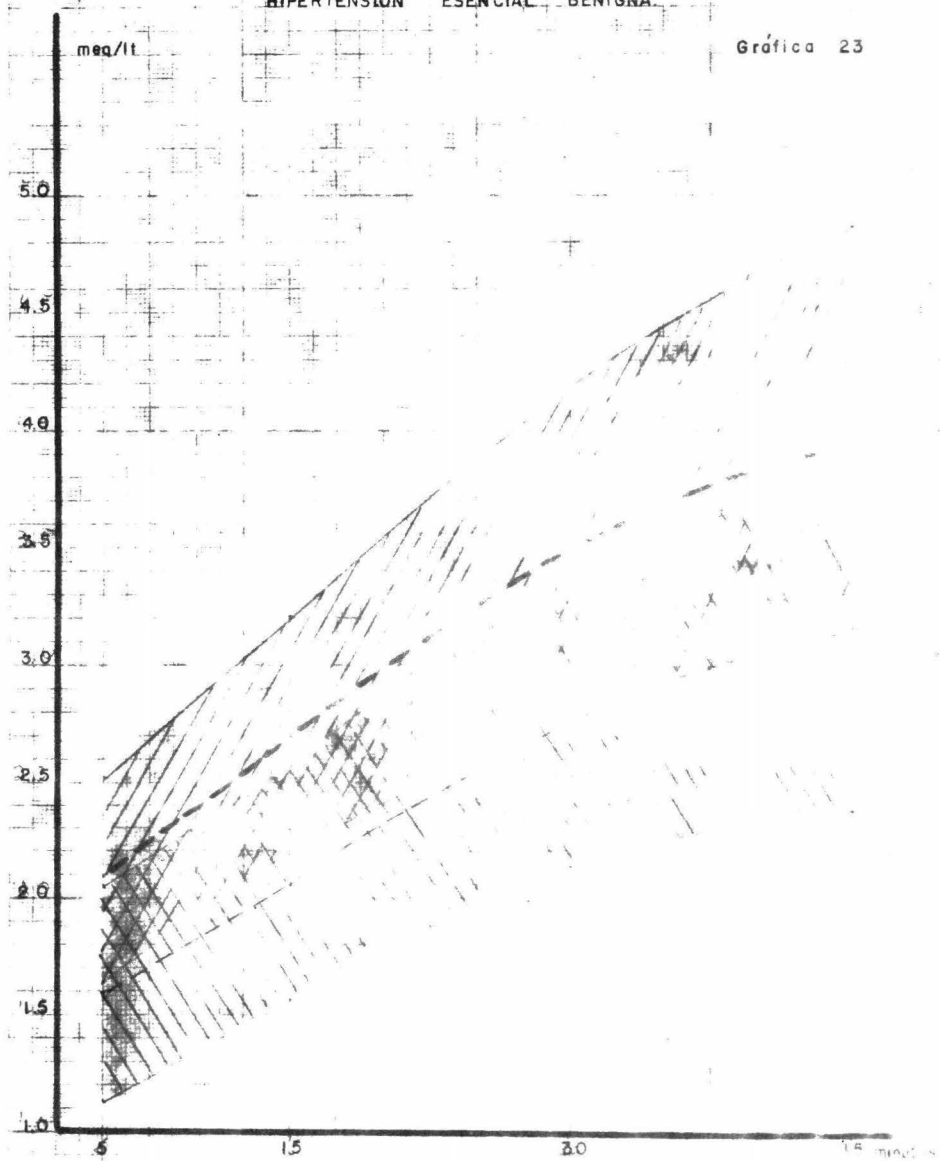
Gráfica 22

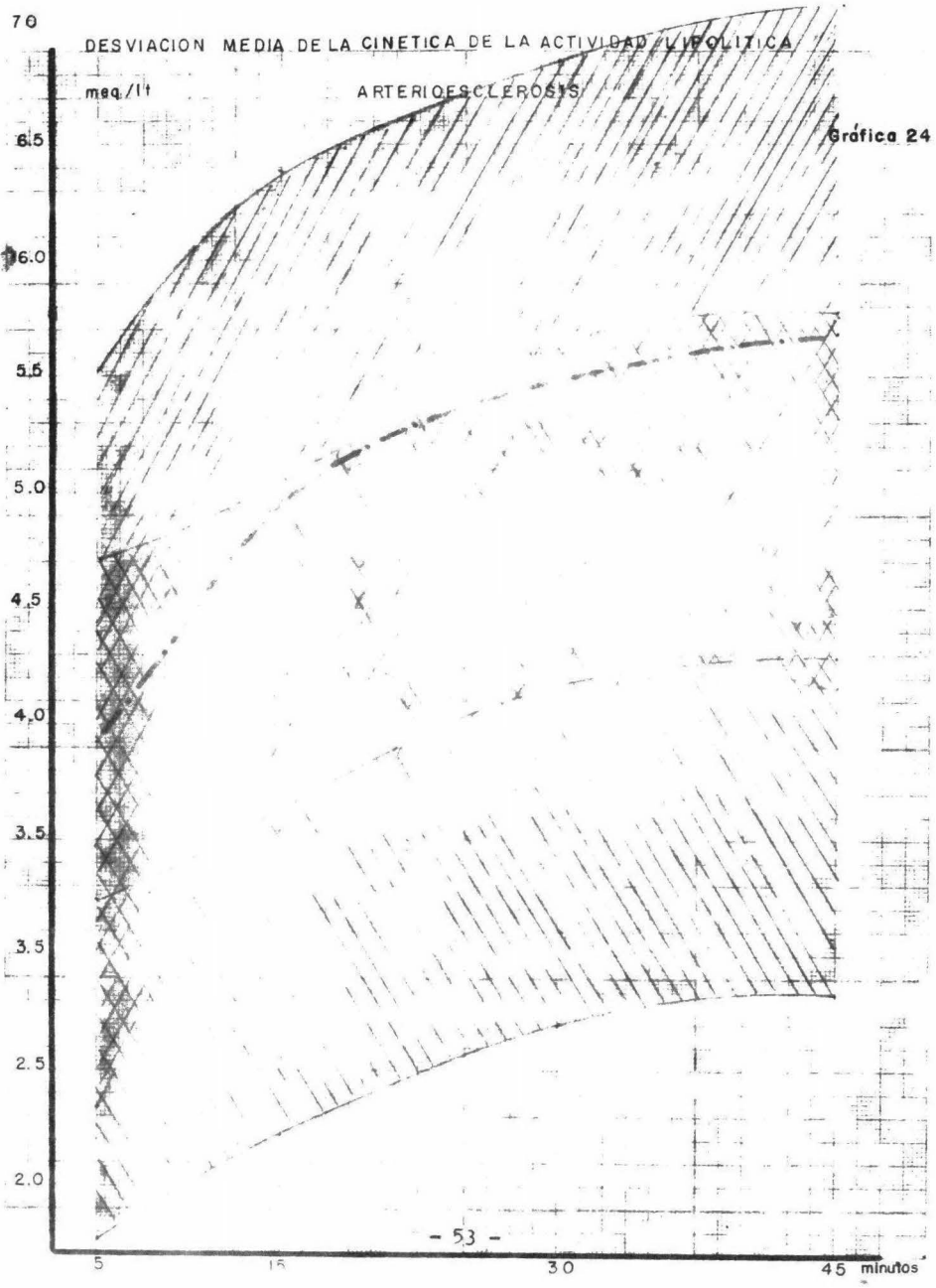


DESVIACION MEDIA DE LA CINETICA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA.

HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA

Gráfica 23



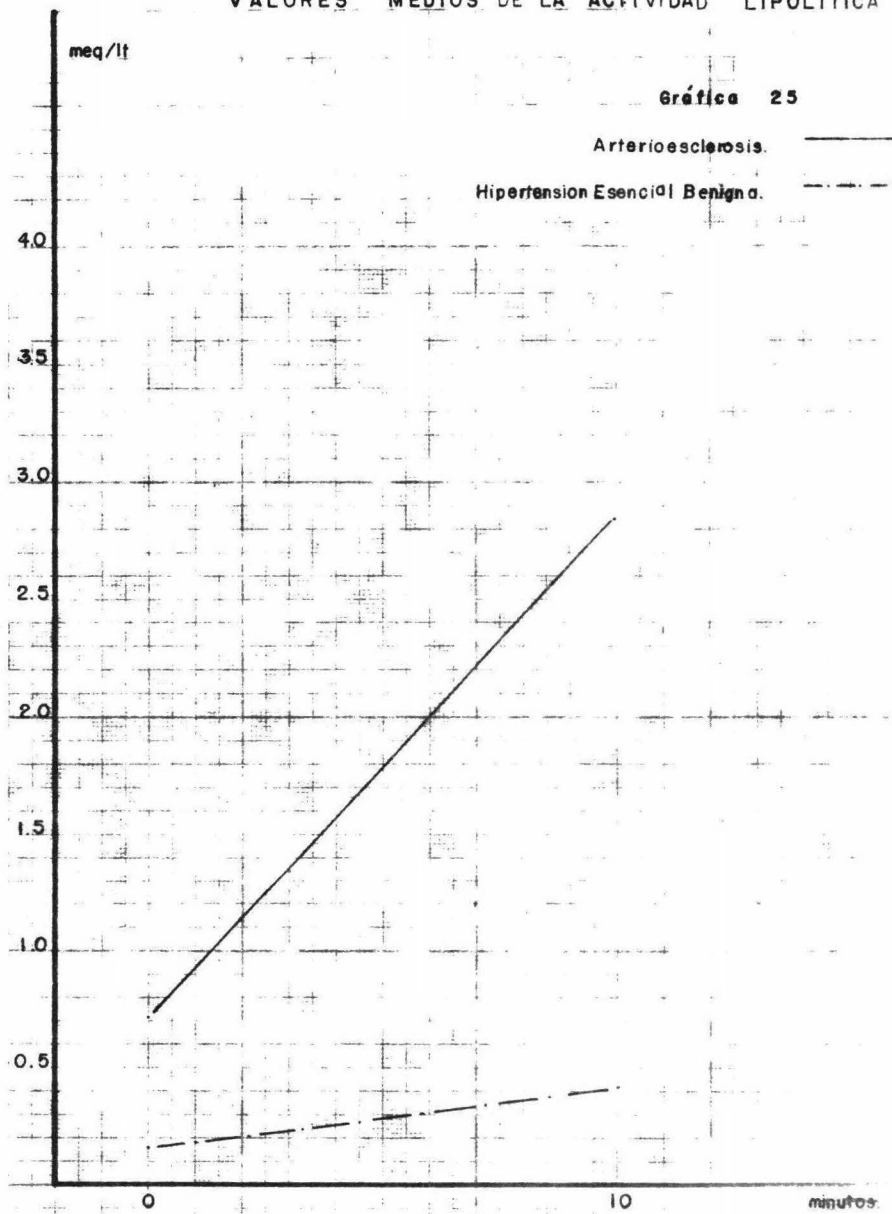


RELACION DE VALORES MEDIOS DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA  
LIPASA LIPOPROTEICA.

TABLA VII

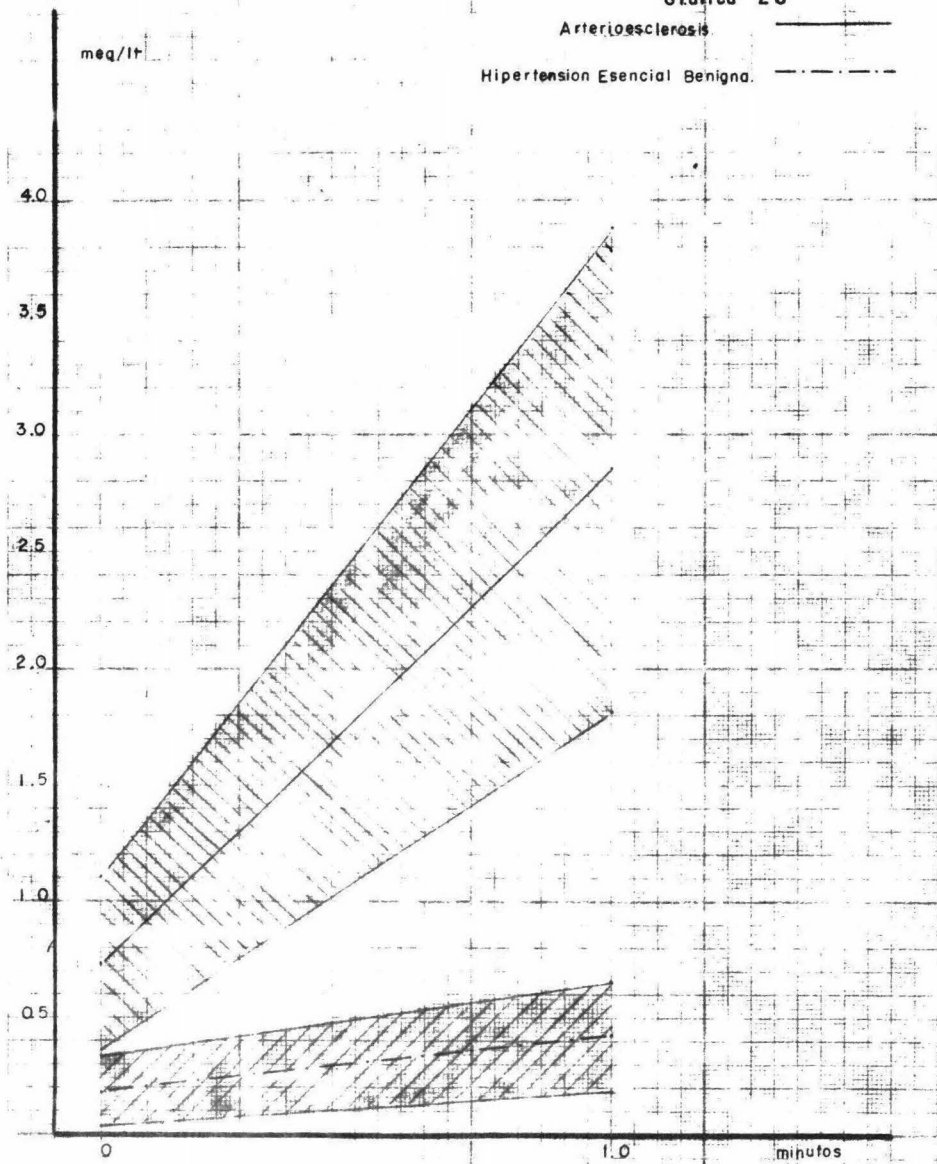
HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA.		
	Normal o pre-heparina	post-heparina
MEDIA ARITMETICA	0.18	0.42
DESVIACION ESTANDAR	0.15	0.23
ARTERIOESCLEROSIS		
MEDIA ARITMETICA	0.73	2.85
DESVIACION ESTANDAR	0.37	1.04

VALORES MEDIOS DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA



DESVIACION MEDIA DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

Gráfica 26



RELACION ESTADISTICA .

TABLA VIII

CINETICA DE LA REACCION DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA

NORMALES CONTRA HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA								
	1	2	3	4	5	6	7	8
"t"	0.36	1.85	3.92	4.63	0.64	3.33	3.83	4.11
"p"	N.S.	0.1.	< 0.001	< 0.001	N.S.	< 0.01	< 0.001	< 0.001
NORMALES CONTRA ARTERIOESCLEROSIS								
"t"	4.84	5.51	6.10	6.17	5.17	8.25	8.38	7.78
"p"	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA CONTRA ARTERIOESCLEROSIS								
"t"	4.79	4.65	3.91	3.10	4.99	6.66	5.82	4.52
"p"	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.01	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

ACTIVIDAD LIPOLITICA

HIPERTENSION ESENCIAL BENIGNA CONTRA ARTERIOESCLEROSIS		
	Pre-heparina	Post-heparina.
"t"	6.32	10.21
"p"	0.001	0.001

V DISCUSION.



El objetivo de este trabajo, fué investigar si existía relación entre la presencia y actividad de la enzima lipasa lipoproteica y el desarrollo de la arterioesclerosis; mas adelante se presentó la oportunidad de estudiarla en enfermos con hipertensión esencial benigna, la cual tiene cierta relación con la arterioesclerosis pues en muchos casos se produce esta enfermedad como consecuencia de la hipertensión.

Las muestras trabajadas para obtener los valores normales fueron jóvenes entre los 20 y los 30 años de edad, - se escogió este rango debido a que personas, sobre todo del sexo masculino, al pasar de los 40 años ya presentan indicios de arterioesclerosis y algunos casos presentan las consecuencias de la misma como hipertensión, angina de pecho, infarto, embolia cerebral, etc.

Se observará que en estas muestras no se hizo la determinación de la actividad lipolítica "in vivo", debido a que el estudio original era conocer la cinética de la reacción basándonos en la investigación del Dr. Donald S. Fredrickson. Mas adelante analizando las bases del método surgió la idea de investigarla en vivo, pero ya no fué posible obtener nuevas muestras de las mismas personas.

El fundamento del método para determinar la actividad lipolítica "in vivo" se basa en una determinación indirecta de los ácidos grasos hidrolizados por la enzima en el organismo, ya sea la presente o la liberada por la heparina, como no podemos identificar la enzima en el torrente sanguíneo se determina por los efectos que produce. En cambio la determinación de la cinética de la reacción de la actividad enzimática la realizamos "in vitro" y proporcionamos el sustrato (aceite de coco), el transportados de los ácidos grasos hidrolizados por la enzima (albúmina) y la enzima presente en el plasma, se incubaba a 37 grados por di-

ferentes tiempos y finalmente se hace la cuantificación de ácidos grasos liberados por la enzima presente mediante el método ya indicado, basado en una reacción colorimétrica, es necesario aclarar que los ácidos grasos cuantificados en la cinética de la reacción no son los ácidos presentes en el plasma sino los hidrolizados in vitro por la enzima lipasa lipoproteica de los triglicéridos contenidos en el sustrato.

En los datos obtenidos de los casos normales o clínicamente sanos, se observó un ligero aumento en la actividad de la enzima, como se muestra en la siguiente tabla, en la cual se obtuvo una relación en por ciento de la actividad, dividiendo los miliequivalentes de ácidos grasos post-heparina entre los pre-heparina, con los siguientes resultados.

NORMALES.

TABLA IX

Número	% de actividad	Número	% de actividad
1	2.0	11	1.0
2	3.4	12	1.3
3	4.0	13	1.3
4	1.1	14	1.1
5	2.4	15	1.0
6	1.9	16	1.0
7	1.0	17	1.1
8	1.0	18	1.0
9	1.6	19	1.1
10	1.2	20	1.1

Observando estos datos , al igual que las gráficas correspondientes, es notorio la homogeneidad de valores y orientación de las curvas, (gráficas 1,2,3 y 4), las cuales nos muestran una actividad que aumenta progresivamente, esta idea se confirma al estudiar los datos estadísticos con valores medios que varían de 1.53 mEq/l a 2.12 mEq/l en la serie pre-heparina y de 1.98 mEq/l a

2.85 mEq/l en la post-heparina y con un 1.2 % de actividad total; también hay que hacer notar que estos valores se encuentran fuera de los límites de interferencia de los valores medios. (gráfica 22).

En similitud los datos obtenidos en los casos de hipertensión esencial benigna muestran un aumento muy semejante a los casos normales en la actividad lipolítica. En la siguiente tabla se muestra una relación en función al por ciento de actividad enzimática entre la cinética de la reacción y la actividad lipolítica "in vivo", ésta está formada por cuatro columnas, las dos primeras nos indican la relación de numeración ordinal entre las dos determinaciones, dependiendo de los resultados obtenidos en cada una de ellas, pues como recordará se ~~Enlistaron~~ en orden creciente. Las dos columnas siguientes tituladas por ciento de actividad nos dan una relación en por ciento entre las dos determinaciones, observando que no existe relación constante entre estas dos; por ejemplo, el caso #4 de la primera columna siendo uno de los más bajos en la cinética de la reacción nos da un porcentaje alta en la actividad lipolítica en la cual le corresponde el número 18, en cambio el caso número 10 de la primera columna coincide con el número 11 de la segunda, sin embargo el número 16 de la primera es muy bajo en por ciento con respecto a la actividad lipolítica en el que es alta y le corresponde el número 3 en orden. El por ciento se obtuvo de la misma manera que en la tabla IX.

Al observar las gráficas correspondientes y compararlas con los datos de la tabla X se nota una mayor actividad que en los casos normales, los valores medios que varían de 1.59 mEq/l a 3.14 mEq/l en la serie pre-heparina y de 2.08 mEq/l a 3.89 mEq/l en la post-heparina y con una actividad total de 1.3 %, al igual que en los casos anteriores estos valores se encuentran fuera de los límites de interferencia. (gráficas 5,6,7,8 y 23 )

NUMERACION		% DE ACTIVIDAD	
Cinética de la reacción	Actividad lipolítica	Cinética de la reacción	Actividad lipolítica
1	1	6.5	2.2
2	8	1.8	10.8
3	5	1.1	4.4
4	18	1.5	1.1
5	16	1.5	2.6
6	12	1.0	4.6
7	19	1.3	1.6
8	15	1.0	1.2
9	2	1.2	2.2
10	11	1.2	1.4
11	6	1.5	4.4
12	10	1.4	4.0
13	14	1.1	1.3
14	9	1.0	1.4
15	4	1.7	12.5
16	3	1.2	6.7
17	20	1.0	1.2
18	7	1.0	4.4
19	13	1.0	4.0
20	17	1.0	2.5

Los valores obtenidos en la actividad lipolítica "in vivo" de ácidos grasos liberados por la enzima lipasa lipoproteica en el organismo fué de 0.18 mEq/l a 0.40 mEq/l que nos representa un 2.3 % de actividad total. ( gráficas 13,14,15 y 16 )

Es importante hacer notar que este grupo de enfermos se encuentra dentro de límites normales de ácidos grasos - propuestos por el método. ( 0.09 - 0.6 mEq/l )

Al iniciar este estudio se pensó, tomando en cuenta la evolución de la arterioesclerosis, que la cantidad presente de la enzima lipasa lipoproteica en estos enfermos se encontraba por debajo de los límites normales, produciendo en consecuencia una eliminación deficiente de quilomicrones en sangre, originándose así la producción y aparición de placas ateromatosas; sin embargo por los datos obtenidos en nuestro estudio estos enfermos tienen valores altos de ácidos grasos y al estimular la liberación de la enzima con la heparina nos da como resultado una elevación marcada de ácidos grasos hidrolizados o sea en estos enfermos la enzima está presente en cantidades necesarias para remover los quilomicrones presentes en un momento dado.

A continuación tenemos la tabla XI que nos presenta al igual que la tabla X una relación de numeraciones y porcentajes de actividad y se observará que posee inclusive las mismas características con respecto a la relación de valores.

Las gráficas correspondientes ( 9, 10, 11 y 12 ), nos muestran una actividad elevada y muy heterogénea, completamente diferente a los dos casos anteriores. Es de notar en algunos de estos casos una disminución en el último valor, probablemente debido a una acumulación del producto (35) debido al tiempo transcurrido, dando lugar a reacciones colaterales entre o entre las demás sustancias presentes produciendo así una pérdida de producto final y en consecuencia una baja concentración de ácidos grasos con respecto a los demás valores de la curva.

Los datos estadísticos en este grupo nos da como valores medios 3.24 mEq/l a 4.29 mEq/l en la serie pre-heparina y 3.92 mEq/l a 5.68 mEq/l en la post-heparina, con un porcentaje de

1.2 % de actividad total y a diferencia de los grupos anteriores los valores medios se encuentran dentro de los límites de interferencia. (gráfica 24).

ARTERIOESCLEROSIS

TABLA XI

NUMERACION		% DE ACTIVIDAD	
Cinética de la reacción	Actividad lipolítica	Cinética de la reacción	Actividad lipolítica.
1	15	4.1	2.2
2	8	2.0	4.0
3	12	2.8	1.9
4	1.	1.8	6.6
5	20	3.0	1.9
6	19	1.0	1.8
7	3	1.4	22.1
8	2	1.2	10.5
9	11	1.2	1.8
10	17	1.4	3.5
11	18	1.1	1.9
12	5	1.6	7.5
13	16	1.3	4.9
14	7	1.2	8.3
15	14	1.1	4.9
16	10	1.0	4.2
17	6	1.3	8.8
18	13	1.2	5.3
19	4	1.2	13.6
20	9	1.1	5.9

En la actividad lipolítica "in vivo" se observan valores altos de ácidos grasos libres en condiciones normales y un gran aumento en la actividad post-heparina ( gráficas 17,18,19 y 20), los valores medios obtenidos varían de 0.73 mEq/l a 2,85 mEq/l

de ácidos grasos libres liberados que nos representa un 3.9 % de actividad lipolítica total.

## VI RESUMEN Y CONCLUSIONES.



## RESUMEN.

- I.- En primer lugar se hace una breve reseña sobre generalidades de la enzima, historia y diversos estudios realizados, también se incluyen algunos datos sobre metabolismo de los lípidos, arterioesclerosis e hipertensión esencial benigna.
- II.- Posteriormente se procedió a la descripción de los métodos para la determinación de la actividad lipolítica y la de ácidos grasos libres, incluyendo fundamentos y procedimiento, así como las modificaciones hechas a los mismos.
- III.- Con los datos obtenidos se elaboraron tablas y gráficas y se obtuvo el estudio estadísticos, el cual consta de cálculo de media aritmética, desviación estandar y cálculo de "t" y "p".
- IV.- Finalmente se procedió a hacer la discusión para obtener fundamentos en los cuales basar nuestras conclusiones.

## CONCLUSIONES.

Por los tratado anteriormente y al revisar los datos obtenidos en los tres grupos estudiados se observó, que la actividad de la enzima lipasa lipoproteica en los pacientes con hipertensión esencial benigna presentaron una discreta elevación, aún cuando los ácidos grasos libres se encontraron dentro de los límites normales, previamente establecidos. En cambio en los enfermos con arterioesclerosis se notó una marcada elevación, tanto en la actividad de la enzima, como en los valores de ácidos grasos libres.

Basándonos es ésto, podemos pensar que un ligero aumento en la actividad de la enzima lipasa lipoproteica, ya sea en casos normales o en pacientes con hipertensión esencial benigna, podría servir al clínico para proporcionar el tratamiento adecuado o las medidas preventivas necesarias para retardar o evitar la aparición de la arterioesclerosis. (?)

Debido a los pocos casos tratados, no es posible estar seguros de la utilidad real de la prueba, pero nos abre el camino hacia una investigación mas amplia en estos enfermos.

VII BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Donald S Frerickson, Katsuto Ono and Louis L Davis  
Lipolytic activity of post-heparin plasma in hiperglyceridemia.  
Journal Lipid Research 4:1 - 24 1963
- 2.- Duncombe, W.G  
Non-esterified Fatty acids method.  
Clin. Chim. Acta 9, 122 (1964)  
1 Howorth, P.J.N., Gibbard and V. Marks, Clin. Chim. Acta 14, 69  
(1966)
- 3.- Dole, Vincent P.  
Non-esterified fatty acids method.  
Journal of Clinical investigations. 35:150, 1956
- 4.- Metodo de Dole modificado.  
Gradwal's. Clinical laboratory methods and diagnosis.  
Tomo # 1 Pag.-  
The C.V. Mosby Company.  
Saint Louis 1970.
- 5.- Donald S Fredrickson, Robert Levy and Robert S Lees.  
Fat Transport in Lipoproteins and integrated approach to  
mechanism and disorders.  
New Englan Journal of medicine. 273:34 1967.
- 6.- Artur C Gyton M.D.  
Textbook of medical physiology.  
4" Edition.  
W.B. Sanders Company.  
Philadelphia 1971.
- 7.- Morris Fishbein, M.D.  
Enciclopedia de la medicina y la salud.  
H.S. Stuttman Co., Inc. Editores.  
New York 16 N.Y. 1967. - 67 -

- 8.- DR. Bautista de Agostoni.  
La arterioesclerosis.  
Editorial de Vecchi, S.A.  
Barcelona 1970
- 9.- Roberto F. Escamilla.  
Laboratory test in the diagnosis and investigation of endocrine  
function. ( pags. 187-197 )  
2<sup>a</sup> Edicion.  
F.A. Davis Company. Philadelphia, 1971.
- 10.-Korn D. Edward.  
Clearing factor a heparin activated lipoprotein lipase. Isolation  
and characterization of the enzyme from normal rat heart.  
Chemical Abstracts. Vol. 49 13328c 1955
- 11.- Skořepa J. and Teodorovičova H.  
Influence of heparin on the level of human serum lipase and  
esterase.  
Chemical Abstracts. Vol. 50 8834g 1956
- 12.- Severi C., Agostoni C., and Perin A.  
Changes in enzyme activity in experimental atherosclerosis.  
Chemical Abstracts. vol. 51 13175g 1957
- 13.- Zemplényie T., and Grafnether D.  
The lipolytic activity of the aorta, its relation to aging  
and atherosclerosis.  
Chemical Abstracts vol. 53 20450a 1959
- 14.- Zemplényie T., and Grafnether D.  
The lipolytic activity of heart and aorta in experimental  
atherosclerosis in rabbits.  
Chemical Abstracts vol 54 7867d 1960

- 15.- Spanner R., and Curri S.B.  
Lipase activity in atherosclerosis arteries of the muscular type.  
Chemical Abstracts.           vol 54    12331d    1960
- 16.- Doubas V.I., Fuks B.B., and Shishkin G.S.  
Histochemical study of esterase and lipase in wall of human aorta in atherosclerosis.  
Chemical Abstracts.           vol. 56    5297c    1962
- 17.- Conconi F., Maventi F., Torri A., and Nava C.  
Influesnce of oral administration of lipids on the post-heparin clearing and lipolytic power in healthes young and in old atherosclerotic subjects.  
Chemical Abstracts           vol. 61    12439f    1964
- 18.- Babina M.V., and Labova N.M.  
Lipolytic activity of blood plasma in pattiens with atherosclerosis.  
Chemical Abstracts           vol. 61    12442d    1964
- 19.- Leits F.L., and Fedoseev A.N.  
Changes in the activity of lipolytic enzymes in dogs with experimental atherosclerosis.  
Chemical Abstracts           vol. 62    5685a    1965
- 20.- Maier M., and Haimovici H.  
Metabolism of atherosclerotic tissue of rabbit and dog with special reference to esterase and lipase.  
Chemical Abstracts           vol 63    7475c    1965
- 21.- Leits F.L.  
Topogrophy of lipolytic enzymers in various stages of evolution of the atherosclerosis.  
Chemical Abstracts           vol. 64    13196g    1966

- 22.- Petrova T.R.  
Relation of some indices of the lipid exchange with coronary atherosclerosis.  
Chemical Abstracts           vol. 67           19588c       1967
- 23.- Churina S.K.  
Pancreatic blood lipase in patients with atherosclerosis and essential hiperlipemia.  
Chemical Abstracts           vol. 67           62356n       1967
- 24.- Patelski J., Bowyer D.E., Howard A.N., and Gresham G.A.  
Changes in phospholipase A, lipase and cholesterol esterase activity in the aorta in experimental atherosclerosis in rabbits and rats.  
Chemical Abstracts           vol. 68           112873x       1968
- 25.- Motova E.E., and Sukanova M.I.  
~~Enzyme activity in the walls of atherosclerotic vessels.~~  
Chemical Abstracts           vol. 69           34183b       1968
- 26.- Skorepa J., Fácik M., Mares P., and Novak S.  
Metil palmitate as sustrate in the estimation of post-heparin lipolitic activity in normal subjets and atherosclerotics.  
Chemical Abstracts           vol. 69           34187f       1968
- 27.- Reich D., and Goodwin L.  
Stabilization and partial purification of lipoprotein lipase.  
Chemical Abstracts           vol. 72           8446k       1970
- 28.- Patelski J., Woligora Z., Bowyer D.E., Howard A.N. and Gresham G.A.  
Lipolitic enzymes of the aortic walls in atherosclerosis.  
Chemical abstracts           vol. 72           129870z       1970
- 29.- Yudanova L.S.  
Pancreatics enzymes in the serum of persons with atherosclerosis.  
Chemical Abstracts           vol. 73           12887n       1970

- 30.- Patelski J., Bowyer D.E., Howard A.N., Jennings I.W., Thome C.  
and Greshan G.A.  
Modification of enzyme activities in experimental atherosclerosis  
in rabbits.  
Chemical Abstracts        vol. 74        40515f        1971
- 31.- Szabo R., Benko S., Szarvas F., and Varga L.  
Lipolytic activity of the heart muscle and the aorta in experi-  
mental cholesterol atherosclerosis.  
Chemical Abstracts        vol. 75        17625d        1971
- 32.- Patelski J. and Tripton K.F.  
Subcellular localization of lipolytic enzymes in pig aorta.  
Chemical Abstracts        vol. 75        60791s        1971
- 33.- Slobodkina K.V., and Chernov A.N.  
Blood lipoprotein lipase in rabbits in normalcy and in the deve-  
lopment of experimental atherosclerosis and the effect of zinc  
salts on the latter.  
Chemical Abstracts        vol. 75        74565h        1971
- 34.- Yasnoka S., and Fujii S.  
Esterase and lipase activities released into the blood by intra-  
venous injection of heparin.  
Chemical Abstracts        vol. 76        121633m        1972.
- 35.- N.M. DOWNIE & R.W. HEAT.  
BASIC STATISTICAL METHODS.  
( pag. 178 y 310 Appendix C Distribution of "t" probability)  
THIRD ADITION.  
HARPER INTERNATIONAL EDITIONS  
NEW YORK 1970.