

24 10/10/57 67(04)

FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

INCORPORADA A LA U. N. A. M.

**DETERMINACION DE LIPIDOS Y SUS FRACCIONES
PRINCIPALES**

**EN NIÑOS CON DESNUTRICION CRONICA GRAVE
Y DURANTE SU RECUPERACION**

GUILLERMO BURGOS TOV

1 9 5 7



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.

7. graf. 2. d. t. Vol. 1139 61(04)
3. ...

FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

INCORPORADA A LA U. N. A. M.

**DETERMINACION DE LIPIDOS Y SUS FRACCIONES
PRINCIPALES**

**EN NIÑOS CON DESNUTRICION CRONICA GRAVE
Y DURANTE SU RECUPERACION**

TESIS PROFESIONAL
en opción al Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

presentada por
GUILLERMO BURGOS TOVAR

1957

A mis Padres
Sr. MEDARDO BURGOS F.
y
Sra. BEATRIZ T. de BURGOS
con todo cariño.

A Dn. LUIS M. VEREA
Director de la Facultad de Química Berzelius
y a mis maestros.

Con todo respeto al
Sr. JESUS FLORES S. J.

A mi gran amigo
JOSE BONILLA JR.

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio No. 1 del Hospital Infantil, bajo la dirección del Dr. Joaquín Cravioto, a quien manifiesto mi profundo agradecimiento.

C A P I T U L O S

- I.—INTRODUCCION Y CONSIDERACIONES GENERALES.
- II.—MATERIAL Y METODOS.
- III.—RESULTADOS.
- IV.—COMENTARIO.
- V.—RESUMEN Y CONCLUSIONES.
- VI.—BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

La desnutrición constituye uno de los principales problemas que afligen a la humanidad y en términos generales puede decirse que 4/5 partes del mundo actual padecen desnutrición en grados diversos (1).

Teniendo en cuenta que para resolver el problema es imprescindible un conocimiento más profundo de las características clínicas, bioquímicas e histopatológicas que presenta el desnutrido, el presente estudio se propone fundamentalmente dar a conocer la evolución que sufren cuantitativamente los lípidos y sus fracciones más importantes en el niño desnutrido y durante el transcurso de su recuperación.

CONSIDERACIONES GENERALES

El término lípidos se refiere a un conjunto heterogéneo de sustancias que tienen en común la propiedad de ser escasamente solubles en agua y variablemente solubles en solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, éter, cloroformo, benceno etc., (2).

CLASIFICACION:

Si los lípidos se han definido químicamente como derivados verdaderos o potenciales de los ácidos grasos o sustancias estrechamente relacionadas, es lógico clasificarlos de acuerdo con los componentes con los cuales los ácidos grasos o sustancias semejantes están unidas (3).

1o. Triglicéridos: Es el grupo más abundante de lípidos en animales superiores y vegetales. Está constituido por triésteres del glicerol con ácidos grasos de elevado peso molecular, siendo los más comunes los ácidos palmítico, esteárico y oléico.

2o. Glicerofosfátidos: Bajo la denominación de glicerofosfátidos se considera un grupo de lípidos derivado de los ácidos alfa y beta glicerofosfórico. Se dividen en los siguientes subgrupos.

a) Ácidos fosfatídicos: Comprenden los fosfolípidos más simples y de estructura química más parecida a los triglicéridos. Son derivados del ácido glicerofosfórico por esterificación de los dos grupos oxidrilo libres con ácidos grasos superiores. Han sido aislados de tejidos animales y vegetales como sales de calcio y magnesio. El ácido fosfatídico más importante es la cardiolipina.

b) Fosfatidil ésteres: Están representados por tres fosfolípidos de estructura semejante, dos de ellos perfectamente caracterizados, lecitina y cefalina y el otro de reciente descubrimiento es la fosfatidil serina. Son ésteres del ácido fosfatídico con un alcohol nitrogenado. Los tres alcoholes en cuestión son: Colina, Etanolamina y Serina.

c) Inositol fosfátidos: Esta clase de fosfolípidos no ha sido aún satisfactoriamente caracterizada, pero se cree que posiblemente tenga relación con los ésteres de fosfatidil y a la fecha se les refiere como inositol fosfátidos y en ocasiones como fosfoinosítidos. Folch (4), ha encontrado un lípido que contiene proporciones equimoleculares de inositol metadifosfato, glicerol y ácidos grasos y es constituyente de la cefalina del cerebro de buey.

d) Lisofosfátidos: Son fosfátidos parcialmente hidrolisados por la acción de enzimas presentes en veneno de serpientes.

e) Ácidos grasos de los glicerofosfátidos: Están representados por un conjunto de ácidos grasos unidos a los glicerofosfátidos y se han obtenido por destilación fraccionada de los ésteres metílicos. Son ácidos grasos con cadenas de veinte a veintidos carbonos, como el ácido araquidónico y el clupanodónico.

f) Plasmalógenos o acetal fosfátidos: Los plasmalógenos son un grupo de glicerofosfátidos de estructura semejante a los derivados de fosfatidil, por lo cual deberían clasificarse en ese grupo, pero por no ser derivados de los ácidos grasos no cumplen con la definición de lípidos dada por Bloor. Fueron descubiertos por Feulgen y Voit (5). Un representante de este grupo fué recientemente cristalizado y se confirmó su estructura como un acetal de alfa-glicerilfosforiletanolamina.

3o. Esfingolípidos: Carter (6) sugiere el término para aquellos lípidos a cuya molécula se haya incorporada la base esfingosina. Este grupo comprende tres subgrupos.

a) Esfingomielina: El único esfingolípido semejante a los glicero-fosfátidos ya descritos, en particular a la lecitina es el conocido como esfingomielina. Los productos finales obtenidos por hidrólisis de esta sustancia, son esfingosina, ácidos grasos, ácido fosfórico y colina. Entre los ácidos grasos se ha logrado aislar el ácido lignocérico.

Aún cuando la molécula de esfingomielina incluye solo un radical de ácido graso, siempre se obtiene una mezcla de estos por hidrólisis, mostrándose con ello que el término esfingomielina denota una clase de compuestos y no una sustancia simple como cuando usamos los términos lecitina, plasmalógeno, etc.

b) Cerebrósidos: El término cerebrósidos se aplica a una clase de esfingolípidos que no contienen fósforo, pero dan por hidrólisis una molécula de ácido graso esfingosina o dihidroesfingosina y una hexosa, esta generalmente es la d-galactosa, pero algunas veces puede ser la d-glucosa. Los dos cerebrósidos más conocidos son la frenosina y la querasina; recientemente se han descubierto el nervón y el exinervón. La frenosina tiene un hidroxiaácido característico llamado cerebrónico. La querasina contiene ácido lignocérico. El ácido integrante del nervón es el nervónico y el del oxinervón en el ácido oxinervónico.

c) Gangliósidos: El nombre gangliósidos ha sido dado por Klenk (7) a sustancias de estructura análoga a la de los cerebrósidos y se encuentran en las células ganglionares del sistema nervioso, pero difieren de los cerebrósidos verdaderos en que dan al ser hidrolizados un producto adicional característico conocido como ácido neuramínico.

Los gangliósidos fueron preparados por la técnica de las columnas de celulosa (8). Por este método los gangliósidos fueron separados en dos fracciones: Gangliósidos 1 que contienen 8% de hexosamina y gangliósido 2 que contiene 2% de hexosamina. Presentan además efecto anticoagulante (9).

De los importantes trabajos de Klenk y sus colaboradores (10) sabemos que los cerebrósidos no son los únicos lípidos del sistema nervioso que contienen carbohidratos. Ellos aislaron gangliósidos del cerebro y

han determinado sus cantidades en diferentes tejidos nerviosos. Además de estos glicolípidos un tercero ha sido descrito por Arsove, Folch y Meath (11) quienes nombraron al nuevo lípido estrandina, pero las preparaciones de Svennerholm (12) han demostrado que la estrandina se compone de gangliósidos en un estado físico-químico diferente contaminados con substancias de molécula pequeña y mucopolisacáridos. Chatagnon y Chatagnon (13) ha sugerido que la esfingomiélinea esta como integrante del complejo.

4o. Esteroles: Los esteroles constituyen un grupo de lípidos que no presentan semejanza estructural con ninguno de los compuestos previamente mencionados. Forman parte del grupo conocido como esteroides, que incluye substancias de propiedades fisiológicas diversas tales como las hormonas sexuales, las hormonas suprarrenales y los ácidos biliares. Todos los esteroides son derivados de un sistema de anillos condensados llamados ciclopentanoperhidrofenantreno. En este núcleo hay introducidos varios grupos substituyentes como: metilo, hidroxilo y cetónico, teniendo además una cadena lateral. El compuesto más importante de este grupo es el colesterol.

COLESTEROL: El colesterol existe en la sangre en dos formas principales, libre y esterificado. La relación entre colesterol libre y el esterificado varía marcadamente de un tejido a otro, pero en situaciones normales es casi constante para el mismo tejido a pesar de las variaciones el su contenido total.

Existen numerosas hipótesis acerca de el papel fisiológico que desempeña el colesterol, sus funciones más importantes son las siguientes (14):

- a) Es un constituyente del estroma celular.
- b) En la célula tiene acción protectora efectiva como agente antitóxico, antihemolítico y antifeccioso, como aislante del sistema nervioso central y como constituyente condicional de la piel.
- c) Es un transportador de ácidos grasos dentro y fuera de los depósitos de grasa.
- d) Facilita la absorción de las grasas.

5o. Ceras: Son ésteres de ácidos grasos con alcoholes de peso molecular elevado tales como: Cetílico, Cerílico y Miricico.

6o. Lipoproteínas: Las lipoproteínas son sustancias complejas formadas por la unión de lípidos y proteínas. Se encuentran ampliamente distribuidas en la materia viviente y en particular son abundantes en el núcleo, membranas celulares, mitocondrias, cloroplastos y se encuentran formando parte de las proteínas del plasma.

Las dos lipoproteínas plasmáticas más bien caracterizadas son las conocidas como alfa y beta lipoproteínas; han sido aisladas por precipitación fraccionada y mediante ultracentrifugación (15), (16). En su solubilidad y propiedades anfotéricas se asemejan a las proteínas típicas del plasma más que a los lípidos.

En lo que respecta a la estructura, virtualmente se ha dicho que se desconoce la clase de unión que existe entre el lípido y la proteína. Así Dervichian (17) ha presentado evidencias y argumentos de que la unidad básica de todas las lipoproteínas es un compuesto iónico de proteínas y lípidos cuyas unidades forman micelas como resultado de las fuerzas de Van der Waals.

ALFA LIPOPROTEÍNAS: Las alfa lipoproteínas aún cuando constituyen solamente 3% de las proteínas del plasma, representan el 25% de los lípidos totales del mismo. Su peso molecular se ha estimado en 200,000. Oncley, Scatchard y Brown (18) consideran la forma elipsoidal para la molécula de las alfa lipoproteínas con un diámetro longitudinal de 300 Å y 50 Å de sección cruzada. Por sus propiedades de solubilidad se clasifican dentro del grupo de las pseudoglobulinas. Su contenido de aminoácidos es de un 65%.

BETA LIPOPROTEÍNAS: Aproximadamente el 75% de los lípidos del plasma de un adulto normal en ayunas corresponde a las beta lipoproteínas y se ha calculado que el contenido protéico de las mismas representa 5% en peso de las proteínas totales del plasma. Las beta lipoproteínas se consideran como euglobulinas puesto que son insolubles en agua en su punto isoeléctrico y en ausencia de sales, pequeñas cantidades de estas las hacen solubles. En el plasma humano las lipoproteínas se unen a otros compuestos tales como las gama globulinas para formar complejos insolubles.

Las beta lipoproteínas tienen peso molecular elevado que se calcula en 1,500,000. Para Oncley (18) la molécula tiene forma esférica con un diámetro de 185 Å. De acuerdo con Gurd (19) su composición aproximada es la siguiente. Polipéptidos 25%, Fosfolípidos 30% y Colesterol libre y esterificado 45%. El caroteno y la acetil fosfatidil colina y probablemente la esfingosina son característicos de las beta lipoproteínas (20). La relación fosfolípidos colesterol es más alta en las alfa que en las beta lipoproteínas.

PROPIEDADES GENERALES DE LOS LÍPIDOS:

Propiedades físicas: La propiedad física más importante de las grasas es su punto de fusión. Esta constante inmediatamente determina dentro de que condiciones se presentan al estado sólido y cuando al estado líquido. Aquellos compuestos en que predominan los ácidos oléico y linoleico y otros ácidos grasos no saturados, son generalmente líquidos a la temperatura ambiente. Por otra parte grasas que contienen preponderantemente ácidos grasos saturados como esteárico y palmítico son ordinariamente sólidas. El punto de fusión tiene un importante papel en la asimilación grasa, ya que cuando estas funden a menos de 50° C son pobremente absorbidas por el intestino humano (21).

Propiedades químicas: Las propiedades químicas más importantes de las grasas son las referentes a sus dobles enlaces presentes en las cadenas de los ácidos grasos. Se combinan con el Yodo y otros halógenos proporcionalmente al número de dobles ligaduras. El llamado "Índice de Yodo" es una constante que da información acerca del grado de insaturación de los ácidos grasos.

Las cadenas insaturadas pueden ser hidrogenadas cuando son sujetas a temperaturas elevadas en presencia de gas hidrógeno y níquel finamente dividido que actúa como catalizador. Las dobles ligaduras son además vulnerables a la oxidación; la adición de oxígeno a tales uniones da lugar a la formación de óxidos y peróxidos que eventualmente originan ácidos grasos de cadena corta y aldehídos. Una segunda posición en la cual todas las grasas y aceites son atacables, es la unión esterificada entre los ácidos grasos y los grupos alcohólicos de la glicerina. La molécula grasa puede ser fácilmente rota mediante la adición de KOH o NaOH y bajo tales condiciones la glicerina se libera y los ácidos grasos se transforman en jabones solubles (21).

Propiedades biológicas: Entre las propiedades biológicas más importantes de las grasas tenemos las siguientes: 1o. Tienen un elevado poder calórico. Cuando son completamente oxidadas en el organismo humano producen 9.3 calorías por gramo, en contraste con las proteínas y los carbohidratos que suministran aproximadamente 4.1 calorías por gramo. 2o. Sirven de vehículo para el transporte de vitaminas liposolubles (A, D, E, K). 3o. Los ácidos grasos que se forman durante la digestión de grasa neutra, se cree forman condiciones favorables para la absorción de calcio, tanto por la acidificación del contenido intestinal como por la combinación con el calcio formando jabones que pueden absorberse mediante la acción de los ácidos biliares. 4o. Suministran ácidos grasos esenciales como linoleico, linolénico y araquidónico. 5o. Ejercen un importante papel en la economía proteica del organismo humano.

En el cuerpo las grasas son de dos tipos: 1o. Tejido graso verdadero que forma parte esencial de la arquitectura celular. 2o. Depósitos grasos, estos son reserva energética utilizable pero también tienen significación metabólica (22).

M A T E R I A L

Se estudiaron quince niños con desnutrición de tercer grado a su ingreso al Hospital y durante su recuperación.

Las características generales (registro, sexo, edad, peso, talla) de los niños a su ingreso se expresan en el siguiente cuadro.

NINO	Registro	Sexo	Edad (años y meses)	Peso (kgs.)	Talla (cms.)
Z. A. E.	206247	M	1 10/12	7.600	72
R. O. M.	182027	F	1 8/12	6.500	78
R. R. J.	200786	M	3	8.400	80
A. V. S.	160958	F	2	5.700	75
CH. R. G.	177848	M	1	6.100	76
C. R. T.	177935	M	1 11/12	6.840	76
A. T. A.	182093	M	3 6/12	9.100	82
O. R. Z.	171581	F	1 8/12	6.100	72
R. A. J.	182609	M	2 6/12	5.200	79
E. M. A.	177767	M	3	13.500	81
J. C. F.	200795	M	4	10.920	99
R. LL. R.	200982	M	1 3/12	6.240	70
G. A. S.	124129	F	5 3/12	11.075	97
E. A. C.	206426	M	1 4/12	6.400	72
R. R. F.	210812	M	2 5/12	5.850	82

M E T O D O S

LIPIDOS TOTALES.

La determinación de lípidos totales se llevó a cabo por el micrométodo de Swahn (23). La técnica se basa en la reacción que se verifica

entre los lípidos y el Sudan negro en etanol (al 50 o 55%). El color tomado por los lípidos es directamente proporcional a su concentración.

REACTIVOS.

I.—Solución saturada de Sudan negro: Pesar aproximadamente 0.1 g. de Sudan negro y disolverlo en 100 ml. de alcohol etílico al 60%. La mezcla se calienta en baño de agua hirviendo hasta ebullición y agitando continuamente. Dejar el reposo durante una noche en frasco tapado, con objeto de favorecer la sedimentación de las partículas insolubles. Filtrar por lo menos dos veces usando papel filtro Munktell No. 00, se logra en esta forma la separación de las partículas suspendidas.

II.—Solución para eluir: Preparar una solución de 20 volúmenes por ciento de ácido acético glacial en alcohol absoluto.

METODO.

Se cortan tiras de papel Whatman No. 1 de 6 x 15 cm. y se dividen en cuadros de 3 x 3 cm. Con auxilio de una micropipeta de Carlsberg colocar 0.020 ml. de suero en la parte central de cada campo. Dos cuadros se dejan en blanco y se usan como control. Pueden hacerse en esta forma cuatro o más dobles determinaciones en un solo papel filtro.

Cuando se coloca la gota de suero en el papel, este debe encontrarse suspendido por sus extremos para evitar su contacto con la superficie subyacente. La gota de suero en el papel se deja secar al aire. Se pasan las hojas al baño de Sudan negro en el cual permanecen durante tres horas; se dan tres lavados sucesivos de quince minutos en etanol al 50%. Secar al aire y cortar los segmentos de 3 x 3 cm. Simultáneamente se colorea un suero testigo cuyo contenido graso se conoce.

El color desarrollado es eluido en 5 ml. de la solución etanol-acético durante una hora. El valor de extinción es leído contra un testigo de la solución eluyente en el espectrofotómetro a 590 u.

La cantidad de lípidos totales por 100 ml. de suero se obtienen por la fórmula siguiente:

D. O. = Densidad óptica.

$$\text{Lip. tot. \%} = \frac{\text{Lip. tot. del suero conocido} \times \text{D.O. del suero problema} \times 100}{\text{D.O. del suero conocido.}}$$

Como testigo de lípidos totales se usó un suero normal cuyo contenido porcentual se determinó por el método gravimétrico de Hueriga y Yesinik (24).

COLESTEROL TOTAL.

El colesterol total se dosificó por el método de Zlatkis y Zak modificado (25) que se basa en la reacción colorida entre el cloruro férrico y el colesterol.

REACTIVOS.

I.—Solución estandar de colesterol: (1 mg. x 1 ml.) Disolver 100 mg. de colesterol puro y seco en 100 ml. de ácido acético glacial.

II.—Solución de cloruro férrico: Disolver 10 gr. de cloruro férrico en 100 ml. de ácido acético glacial y guardar en refrigerador.

III.—Reactivo de color: Disolver 2 ml. de la solución de cloruro férrico en 200 ml. de ácido sulfúrico Q. P.

IV.—Mezcla de Bloor: Mezclar tres volúmenes de alcohol etílico de 96° con un volumen de éter sulfúrico destilado.

Preparación de la curva standar: Pipetear 0.1, 0.2, 0.3 y 0.5 ml. de la solución estandar de colesterol en tubos limpios y secos de 30 ml., diluir cada uno con ácido acético glacial a 3 ml; el ácido acético se mide con bureta de 10 ml. Se prepara un testigo que contiene 3 ml. de ácido acético glacial y 0.1 ml. de agua destilada.

Pipetear cuidadosamente 2 ml. del reactivo de color en cada tubo, procurando que baje por las paredes produciéndose dos capas. Mezclar, un ligero tinte café aparece inicialmente para virar en aproximadamente un minuto al púrpura intenso; cuando el tubo se ha enfriado a la temperatura del cuarto, leer en espectrofotómetro con filtro 560.

En el método original la determinación se efectúa directamente sobre 0.1 ml. de suero, pero se observó que debido a una imperfecta destrucción de las proteínas por el ácido sulfúrico usado, los valores obtenidos eran excesivamente altos, no guardando relación en algunos casos con el contenido total de lípidos., por lo que se hizo una desproteínización con la mezcla de Bloor, obteniéndose así resultados razonables. El siguiente cuadro muestra las diferencias encontradas en siete sueros.

	Método Directo mg. %	Lípidos Totales mg. %	Método Modificado mg. %
Suero 1	260	476	168
Suero 2	251	378	144
Suero 3	232	305	188
Suero 4	165	171	75
Suero 5	225	392	115
Suero 6	221	213	107
Suero 7	150	156	56

METODO.

En un tubo aforado a 10 ml. poner 0.5 ml. de suero, agregar 5 ml. de mezcla alcohol-éter y agitar, completar al volumen y calentar durante 30 minutos a 50-60° C. Dejar enfriar y aforar nuevamente. Filtrar con papel Whatman No. 42, tomar 1 ml. del filtrado y evaporarlo en un tubo de 30 ml. Agregar 3 ml. de ácido acético glacial y 2 ml. del reactivo de color, medir la absorción en la forma antes mencionada y determinar el contenido total de colesterol en la curva de calibración (gráfica 1) o haciendo los siguientes cálculos.

CALCULOS. Los cálculos se efectúan determinando pendiente y obteniendo el factor.

$$D. O. = \text{Densidad óptica.} \quad \text{Pendiente} = \frac{D. O.}{\text{concentración}}$$

$$F. = \text{Factor.} \quad F = \frac{1}{\text{pendiente}}$$

$$F. \times D.O. = \text{conc. del tubo problema}$$

DETERMINACION DE LAS CONCENTRACIONES RELATIVAS DE LIPOPROTEINAS EN FRACCIONES SEPARADAS POR ELECTROFORESIS EN PAPEL FILTRO.

La determinación de alfa y beta lipoproteínas se hizo por el método de Kunkel y Tiselius (26) para proteínas, pero el revelado se llevó a cabo con el colorante de Swahn (23) específico para lípidos.

REACTIVOS.

I.—Solución saturada de Sudan negro: Igual que para lípidos totales.

II.—Solución Buffer de veronal con pH de 8.6 y potencia iónica de 0.1: Pesar 17.51 g. de barbiturato de sodio y 2.76 g. de ácido barbitúrico, disolver en agua destilada y aforar a dos litros.

La separación electroforética se llevó a cabo en tiras de papel Whatman No. 1 en aparato "L. K. B." modelo 3290 B con capacidad para cuatro tiras de 4 x 41 cm. La corriente eléctrica se gradua a 8 miliamperios y se deja correr el suero durante cuatro horas y media.

Por una de las aberturas de la tapa y usando una micropipeta de Carlsberg de 0.020 ml. aplicar el suero sobre el papel en forma de estria lo más fina posible y uniforme, transversal, de 3 cm. de longitud. La zona de aplicación ha de distar cuando menos 5 mm. del borde de la tira de papel para evitar las distorsiones marginales.

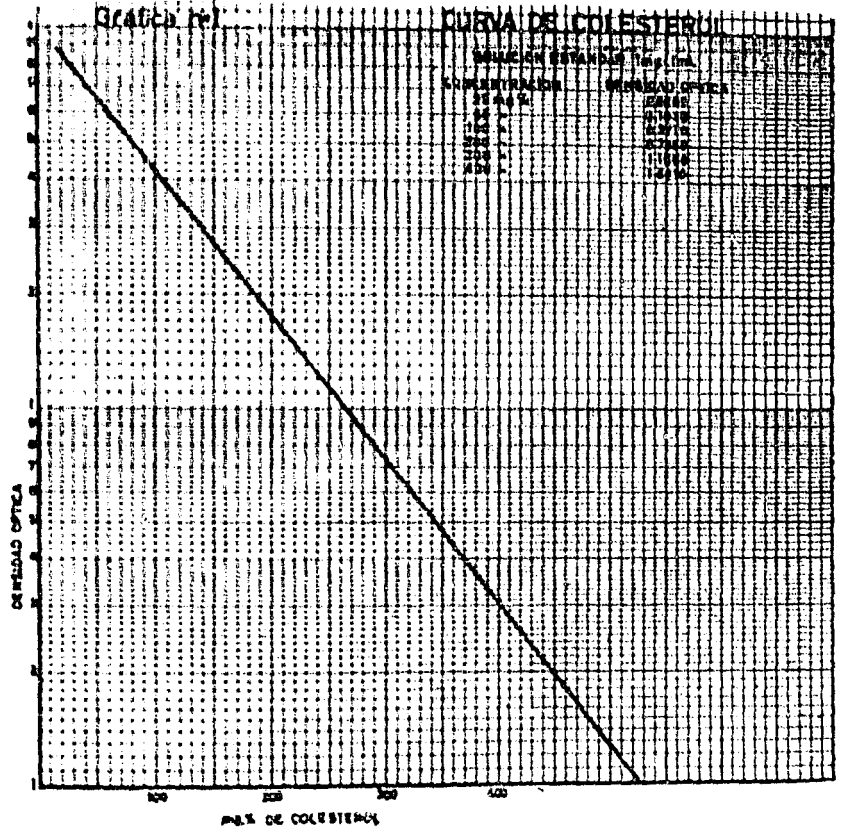
Retirar las tiras sin tocarlas con los dedos y secarlas al aire o bien en estufa a 80° C. durante 20 minutos. Someterlas al baño de Sudan negro durante tres horas y lavar tres veces con alcohol etílico al 50% dando un tiempo de 15 minutos a cada baño. Secar al aire y leer en un densitómetro. En este trabajo se usó un densitómetro GAMMA. Se grafican las lecturas en papel milimétrico y las superficies de las curvas obtenidas se miden con un planímetro (Keuffel & Esser modelo 4236). Se establece la relación entre la superficie de las curvas y el contenido total de lípidos.

Gráfico (c)

CURVA DE COLESTEROL

SOLUCION ESTANDAR mg./ml.

CONCENTRACION	DEFLEXION OPTICA
25 mg/ml	0.000
50 mg/ml	0.005
100 mg/ml	0.010
200 mg/ml	0.020
400 mg/ml	0.040



R E S U L T A D O S

Los resultados se exponen en los siguientes cuadros. Se han formado dos grupos, el primero integrado por cuatro niños a los cuales se les hicieron las determinaciones de lípidos totales, colesterol total y alfa y beta lipoproteínas en períodos fijos para cada caso y el segundo grupo formado por diez niños a los cuales se les hicieron las mismas determinaciones en periodos variables para cada caso.

CUADRO I

Grupo 1o.

Caso No. 1. Niño Z.A.E. Se hicieron 6 determinaciones con períodos de 4 días.

Sueros	Lípidos totales mg. %	Incremento %	Colesterol total mg. %	Incremento %	Alfa lipoproteínas		Beta lipoproteínas	
					% Área	mg. %	% Área	mg. %
1	272.8	0.0	111.3	0.0	6.25	17.0	93.75	255.8
2	300.2	10.0	113.2	1.6	6.75	20.2	93.25	280.0
3	328.6	20.4	107.7	-3.2	10.35	34.0	89.65	294.6
4	357.5	31.0	126.4	13.5	16.85	60.2	83.15	297.3
5	383.7	40.6	151.1	35.7	11.03	42.3	83.97	341.4
6	462.1	51.2	177.7	59.6	15.77	72.8	84.23	389.2

Caso No. 2. Niño R.O.M. Se hicieron 5 determinaciones con períodos de 6 días.

1	267.7	0.0	106.5	0.0	11.02	30.2	88.98	238.2
2	261.6	-2.2	102.2	-4.1	12.12	31.7	87.88	229.9
3	308.3	15.2	130.7	22.6	19.22	60.0	80.78	249.2
4	258.7	-3.3	118.2	11.0	16.63	43.0	83.37	215.1
5	442.2	65.1	174.0	63.3	18.05	80.8	81.95	352.3

Caso No. 3. Niño R.R.J. Se hicieron 5 determinaciones con períodos de 4 días.

1	574.0	0.0	142.5	0.0	5.72	32.8	94.28	541.1
2	514.0	-10.5	148.0	3.5	7.10	36.5	92.90	477.4
3	391.9	-31.8	159.1	11.6	7.56	29.6	92.44	362.2
4	388.2	-32.2	169.1	18.6	10.50	40.7	89.50	347.4
5	395.6	-31.0	159.1	11.6	13.47	53.3	86.53	342.3

Caso No. 4. Niño 9.V.S. Se hicieron 3 determinaciones con períodos de 15 días.

1	212.7	0.0	86.4	0.0	8.88	18.8	91.12	193.8
2	399.5	87.8	144.6	67.2	15.74	62.8	84.26	336.6
3	479.9	125.6	199.7	131.8	15.53	74.5	84.47	405.3

CUADRO II

Grupo 2o.

Caso No. 5. Niño CH.R.G. Se hicieron 4 determinaciones, a su ingreso y a los 4, 34 y 37 días.

Sueros	Lípidos totales mg. %	Incremento %	Colesterol total mg %	Incremento %	Alfa Hipoproteínas		Beta Hipoproteínas	
					% Área	mg. %	% Área	mg. %
1	476.1	0.0	168.8	0.0	7.54	35.6	92.51	440.7
2	464.6	-2.4	186.8	10.6	5.93	27.5	94.07	437.0
3	378.1	-20.5	144.7	-14.2	21.64	81.8	78.36	296.2
4	305.2	-35.9	188.0	11.3	14.73	45.3	85.27	260.2

Caso No. 6. Niño C.R.T. Se hicieron 3 determinaciones, a su ingreso y a los 22 y 26 días.

1	337.6	0.0	101.3	0.0	8.38	28.3	91.62	309.3
2	367.8	8.9	176.7	74.3	6.49	23.8	93.51	343.9
3	507.3	50.2	179.1	76.7	13.82	70.1	86.17	437.2

Caso No. 7. Niño A.T.A. Se hicieron 6 determinaciones, a su ingreso y a los 6, 10, 47, 51 y 55 días.

1	195.8	0.0	99.6	0.0	0.00	00.0	100.00	195.8
2	249.1	27.7	106.5	6.9	8.54	21.2	91.46	227.8
3	215.6	10.0	91.3	-8.3	4.29	9.2	95.71	206.3
4	202.3	3.3	109.1	9.5	4.95	10.0	95.05	192.3
5	387.5	97.8	198.2	98.5	17.02	65.9	82.98	321.5
6	372.0	89.9	190.4	91.0	21.12	78.5	78.88	293.4

Caso No. 8 Niño O.R.Z. Se hicieron 4 determinaciones, a su ingreso y a los 9, 30 y 64 días.

1	228.9	0.0	89.8	0.0	3.34	7.6	96.66	221.2
2	309.2	35.0	121.5	35.2	5.12	15.8	94.88	293.3
3	364.4	59.2	116.8	30.0	12.25	44.6	87.75	319.8
4	387.5	69.3	151.1	68.1	17.84	69.1	82.16	318.3

Caso No. 9. Niño R.A.J. Se hicieron 3 determinaciones, a su ingreso y a los 6 y 10 días.

1	263.9	0.0	84.0	0.0	7.52	19.8	92.48	244.1
2	260.0	-1.4	83.2	-0.9	8.90	23.1	91.10	236.8
3	281.2	6.5	95.6	13.7	12.00	34.2	88.00	247.4

Caso No. 10. Niño E.M.A. Se hicieron 3 determinaciones, a su ingreso y a los 10 y 45 días.

1	213.7	0.0	107.7	0.0	7.46	15.9	92.54	197.7
2	426.7	99.6	189.2	75.6	9.30	39.6	90.70	387.0
3	421.8	97.4	189.2	75.6	14.25	60.1	85.75	361.7

CUADRO III

Grupo 2o. (Continuación).

Caso No. 11 Niño J.C.F. Se hicieron 5 determinaciones, a su ingreso y a los 3, 8, 28 y 35 días.

Suerte	Lípidos totales mg. %	Incre- mento %	Colesterol total mg. %	Incre- mento %	Alfa lipoproteínas		Beta lipoproteínas	
					% Área	mg. %	% Área	mg. %
1	229.3	0.0	118.2	0.0	11.62	26.9	88.38	202.6
2	358.8	56.4	134.5	13.7	9.43	33.8	90.57	324.9
3	434.2	89.3	177.7	50.2	13.34	57.9	86.66	376.2
4	465.5	103.0	166.9	41.2	20.54	95.6	79.46	369.8
5	461.6	101.3	163.5	38.1	16.99	78.4	85.01	383.1

Caso No. 12 Niño R.L.L.R. Se hicieron 8 determinaciones, a su ingreso y a los 4, 6, 14, 20, 22, 25 y 31 días.

1	219.6	0.0	95.5	0.0	7.77	17.0	92.23	202.5
2	235.5	7.2	90.5	-5.1	7.08	16.6	92.92	218.8
3	235.5	7.2	101.3	6.1	19.11	45.0	80.89	190.5
4	321.3	46.2	104.8	9.7	15.64	50.2	84.36	271.0
5	314.4	43.1	93.8	-1.7	10.78	33.9	89.22	280.5
6	535.4	143.7	110.1	15.2	19.92	106.6	80.08	428.8
7	579.1	163.6	146.9	53.8	17.50	101.3	82.50	477.8
8	535.4	143.7	188.9	97.8	12.68	67.9	87.32	467.5

Caso No. 13. Niño G.A.S. Se hicieron 6 determinaciones, a su ingreso y a los 8, 31, 34, 40 y 44 días.

1	156.4	0.0	56.1	0.0	2.80	4.3	97.20	152.0
2	171.1	9.4	74.9	33.5	2.60	4.4	97.40	166.6
3	392.6	151.0	115.5	105.5	7.61	29.8	92.39	362.7
4	407.6	160.5	129.6	131.1	13.35	54.4	86.65	353.2
5	597.1	281.7	107.7	92.0	10.34	61.7	89.66	535.3
6	438.1	180.1	164.5	193.3	14.44	63.2	85.56	374.9

Caso No. 14. Niño E.A.C. Se hicieron 5 determinaciones, a su ingreso y a los 29, 33, 35 y 49 días.

1	344.7	0.0	122.9	0.0	9.61	33.1	90.39	311.5
2	417.0	20.9	148.9	21.1	16.33	68.1	83.67	348.9
3	491.6	42.6	162.1	31.8	9.68	47.5	90.32	444.0
4	511.1	48.2	166.6	35.5	10.32	52.7	89.68	458.4

Séptima	Lípidos totales mg. %	Incre- mento %	Colesterol total mg. %	Incre- mento %	Alfa Hipoproteínas		Beta Hipoproteínas	
					% Área	mg. %	% Área	mg. %
1	229.3	0.0	118.2	0.0	11.62	26.9	88.38	202.6
2	358.8	56.4	134.5	15.7	9.43	33.8	90.57	324.9
3	434.2	89.3	177.7	50.2	13.34	57.9	86.66	376.2
4	465.5	103.0	166.9	41.2	20.54	95.6	79.46	369.8
5	461.6	101.3	163.5	38.1	16.99	78.4	83.01	383.1

Caso No. 12 Niño R.L.L.R. Se hicieron 8 determinaciones, a su ingreso y a los 4, 6, 14, 20, 22, 25 y 31 días.

1	219.6	0.0	95.5	0.0	7.77	17.0	92.23	202.5
2	235.5	7.2	90.5	-5.1	7.08	16.6	92.92	218.8
3	235.5	7.2	101.3	6.1	19.11	45.0	80.89	190.5
4	321.3	46.2	104.8	9.7	15.64	50.2	84.36	271.0
5	314.4	43.1	93.8	-1.7	10.78	33.9	89.22	280.5
6	535.4	143.7	110.1	15.2	19.92	106.6	80.08	428.8
7	579.1	163.6	146.9	53.8	17.50	101.3	82.50	477.8
8	535.4	143.7	188.9	97.8	12.68	67.9	87.32	467.5

Caso No. 13. Niño G.A.S. Se hicieron 6 determinaciones, a su ingreso y a los 8, 31, 34, 40 y 44 días.

1	156.4	0.0	56.1	0.0	2.80	4.3	97.20	152.0
2	171.1	9.4	74.9	33.5	2.60	4.4	97.40	166.6
3	392.6	151.0	115.5	105.5	7.61	29.8	92.39	362.7
4	407.6	160.5	129.6	131.1	13.35	54.4	86.65	353.2
5	597.1	281.7	107.7	92.0	10.34	61.7	89.66	535.3
6	438.1	180.1	164.5	193.3	14.44	63.2	85.56	374.9

Caso No. 14. Niño E.A.C. Se hicieron 5 determinaciones, a su ingreso y a los 29, 33, 35 y 49 días.

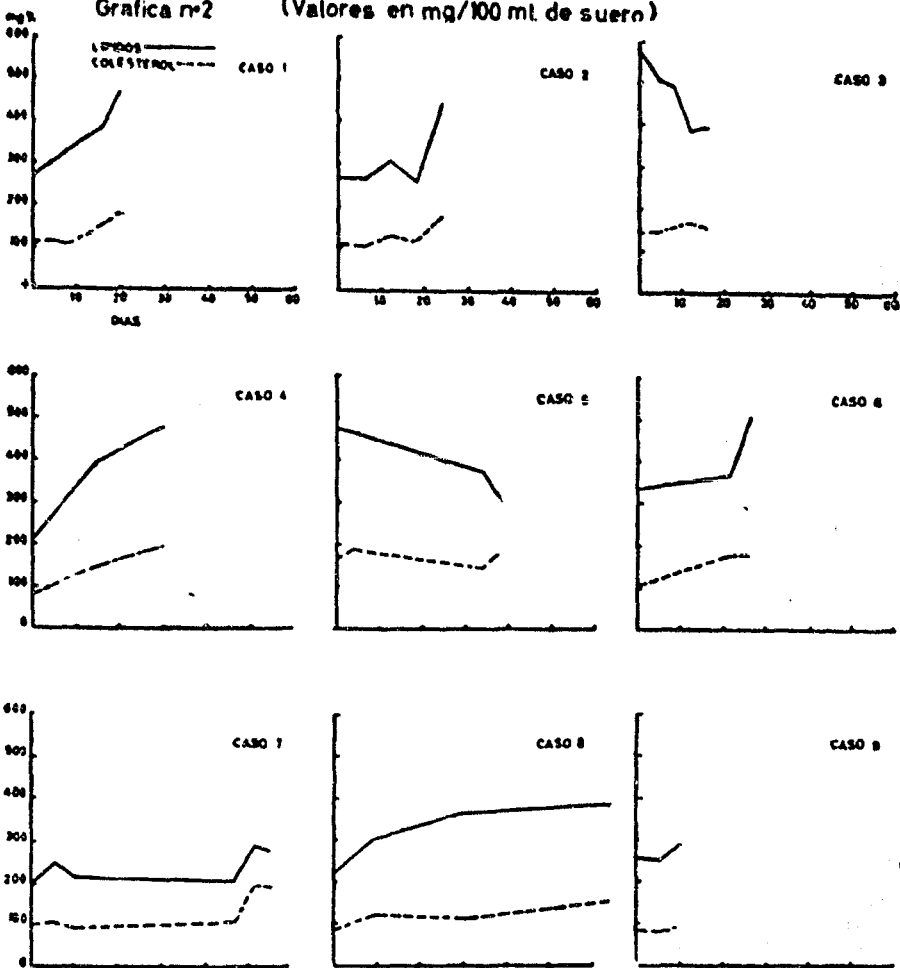
1	344.7	0.0	122.9	0.0	9.61	33.1	90.39	311.5
2	417.0	20.9	148.9	21.1	16.33	68.1	83.67	348.9
3	491.6	42.6	162.1	31.8	9.68	47.5	90.32	444.0
4	511.1	48.2	166.6	35.5	10.32	52.7	89.68	458.4
5	535.4	55.3	174.3	41.7	11.71	62.7	88.29	472.7

Caso No. 15. Niño R.R.F. Se hicieron 6 determinaciones, a su ingreso y a los 1, 2, 5, 18 y 21 días.

1	230.9	0.0	97.4	0.0	6.62	15.8	93.36	223.1
2	253.8	9.9	91.3	-6.2	3.41	8.6	96.59	245.1
3	250.5	8.4	99.6	2.2	3.25	8.1	96.75	242.3
4	369.2	59.8	110.1	19.9	6.55	24.2	93.45	345.0
5	430.2	86.2	133.5	37.0	13.46	57.9	86.54	372.3
6	541.8	134.5	140.7	44.3	20.23	109.6	79.77	432.2

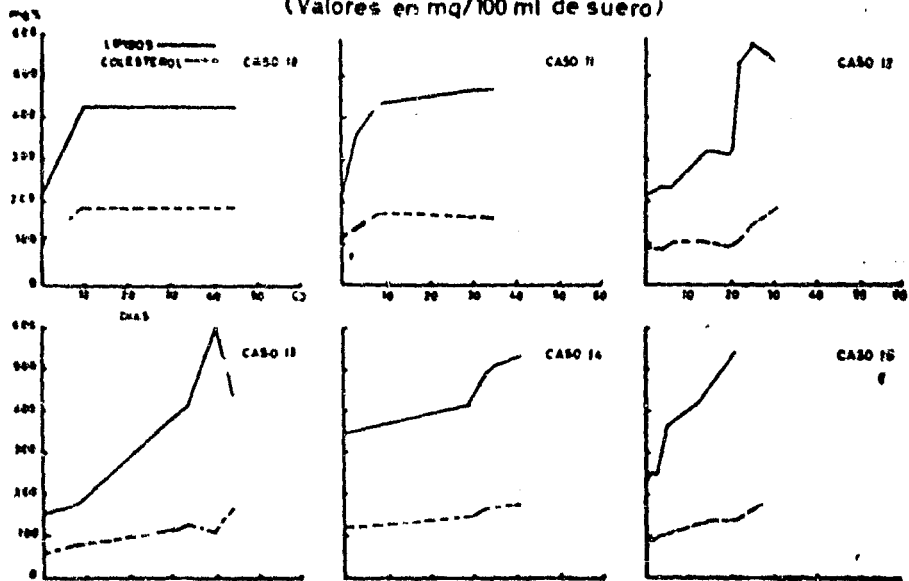
VARIACIONES EN LAS CIFRAS DE LIPIDOS TOTALES Y COLESTEROL SERICOS EN NIÑOS DESNUTRIDOS Y DURANTE SU RECUPERACION.

Grafica n°2 (Valores en mg/100 ml. de suero)



VARIACIONES EN LAS CIFRAS DE LIPIDOS TOTALES Y COLESTEROL SERICOS EN NIÑOS DESNUTRIDOS Y DURANTE SU RECUPERACION

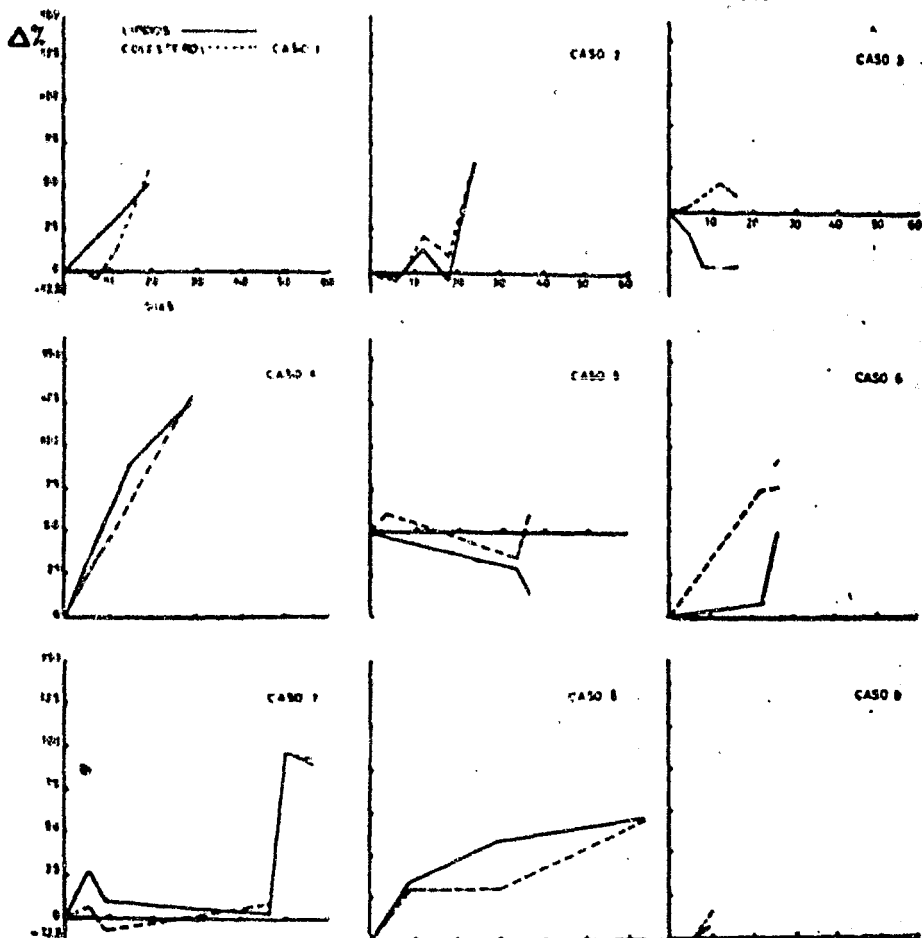
(Valores en mg/100 ml de suero)



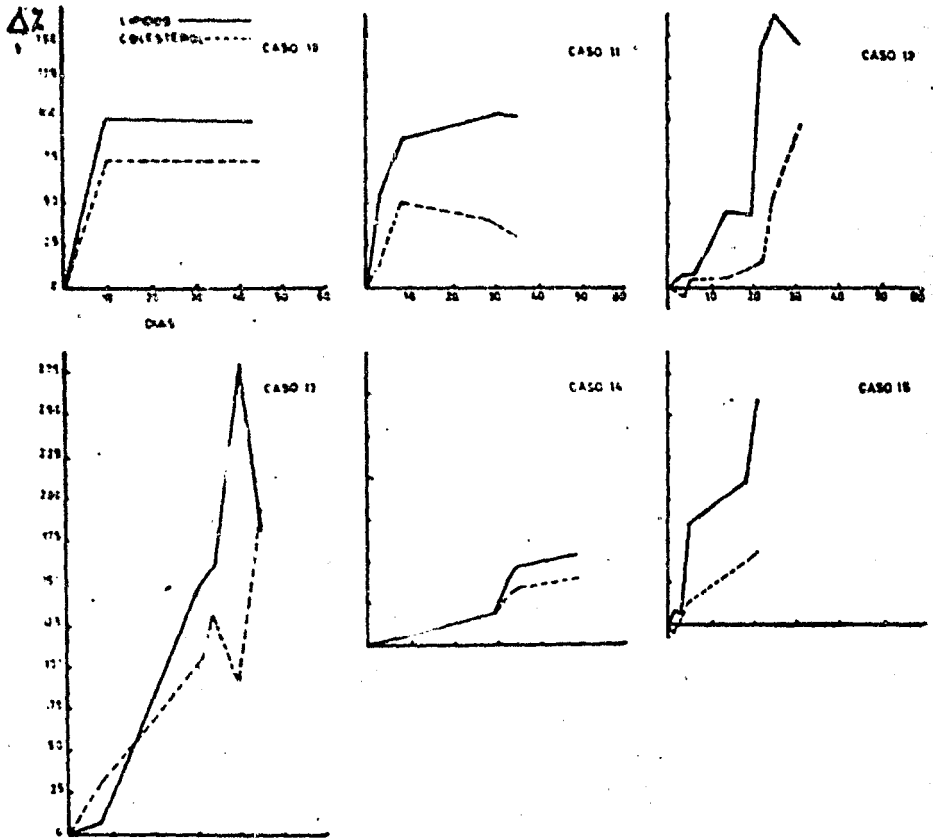
Grafica n°2 (continuacion)

INCREMENTO PORCENTUAL SOBRE EL VALOR INICIAL
DE LIPIDOS TOTALES Y COLESTEROL EN NIÑOS

Gráfica n° 3 DESNUTRIDOS Y DURANTE SU RECUPERACION



INCREMENTO PORCENTUAL SOBRE EL VALOR INICIAL
DE LIPIDOS TOTALES Y COLESTEROL EN NIÑOS
DESNUTRIDOS Y DURANTE SU RECUPERACION

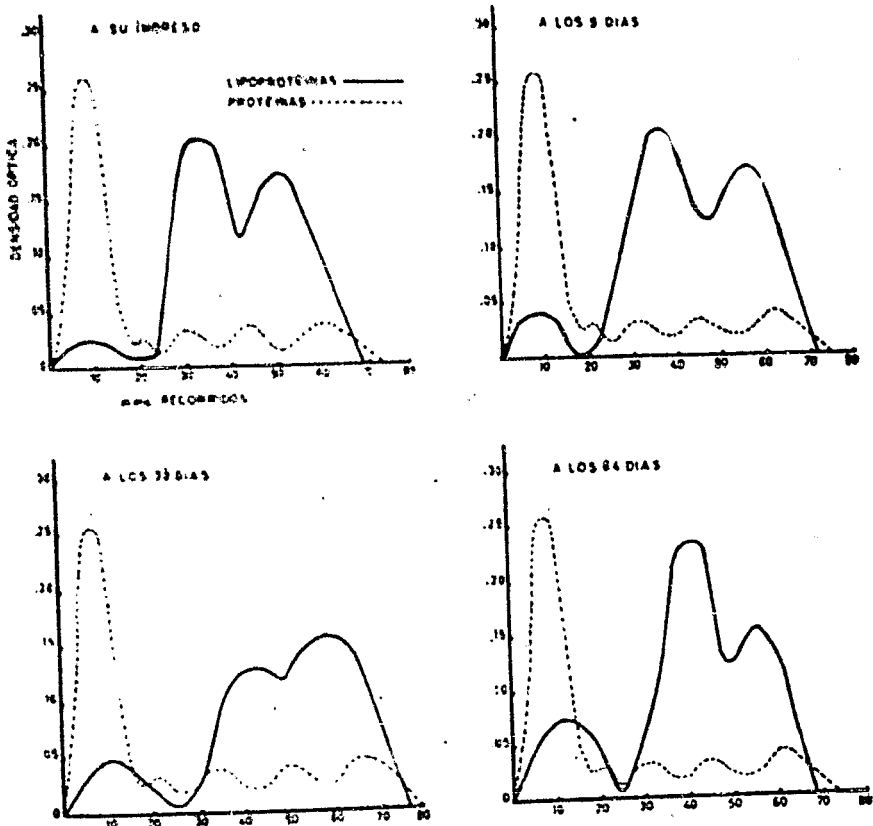


Grafica nº3 (continuacion)

MODIFICACIONES DE LAS LIPOPROTEINAS SEPARADAS POR
ELECTROFESIS EN PAPEL DURANTE LA RECUPERACION
DE NIÑOS CON DESNUTRICION DE TERCER GRADO.

Grafica n°4

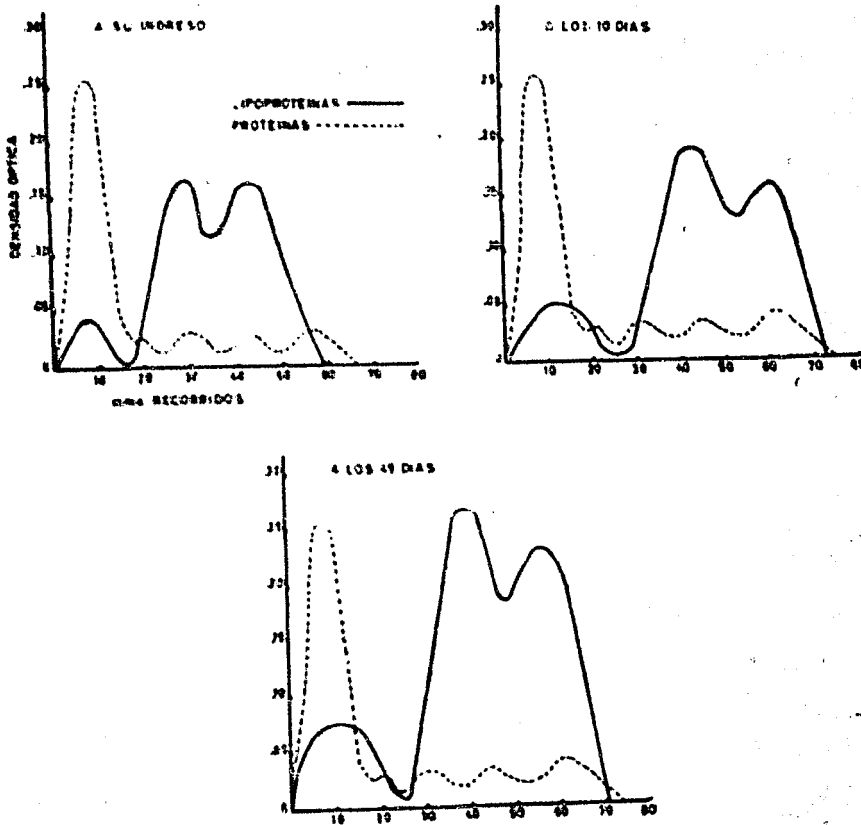
Niño. O.R.Z
Caso n° 8



MODIFICACIONES DE LAS LIPOPROTEINAS SEPARADAS POR
ELECTROFÓRESIS EN PAPEL DURANTE LA RECUPERACION
DE NIÑOS CON DESNUTRICION DE TERCER GRADO

Grafica nº5

Niño E.M.A
Caso nº10



COMENTARIO

LIPIDOS TOTALES: Los trabajos de Blix (27) en 1926, los más recientes de Sperry y colaboradores (28) así como los de Rafstedt y Swahn (29) han demostrado que después de los dos meses de edad, los niveles de lípidos en plasma se estabilizan y que la ingestión de grasa constituye el principal modificador fisiológico de dichos niveles.

El establecimiento de valores normales y de cambios fisiológicos o patológicos en sujetos humanos, ha venido tropezando con grandes dificultades de orden técnico y los métodos analíticos desarrollados, han tenido uso limitado en la clínica debido principalmente a que consumen mucho tiempo, tienen requerimientos críticos, el equipo necesario es costoso y la cantidad de sangre es considerable, factor éste de tremenda importancia, sobre todo en estudios seriados en niños. El advenimiento de micrométodos propuesto originalmente por Swahn (23) en 1952 y aplicado por Rafstedt (30) en su estudio sobre valores normales en el recién nacido y durante los primeros días de la vida, nos permitió el estudio seriado de los niveles plasmáticos en niños desnutridos y durante su recuperación.

Los métodos clásicos para la determinación de lípidos totales en suero pueden catalogarse en tres grupos:

1/o. Métodos de extracción: Los lípidos del suero se extraen con algún solvente o mezcla de solventes adecuados y posteriormente se determina la cantidad extraída por gravimetría, nefelometría, volumetría, etc.

2/o. Procedimiento del lipocrito: en esencia el método consiste en el agregado de una mezcla de alcohol metílico y ácido sulfúrico al suero,

colocación de la mezcla en tubos especiales de centrifuga y medición de la altura de la columna empacada después de centrifugación.

3/o Turbidimetría: Reactivos a base de fenol y NaCl o P-dioxano son añadidos al suero, midiendo el enturbiamiento que se produce y comparándolo con una curva de calibración previamente hecha.

De todos estos métodos, los más sencillos y al parecer más exactos son aquellos en que se extraen los lípidos y se pesa el extracto una vez evaporado el solvente. Sin embargo, como ya se mencionó, se necesitan cantidades relativamente grandes de suero.

En 1948 Kunkel y Eisenmerger (31) describieron un método sencillo turbidimétrico que requiere únicamente 0.2 ml de plasma, pero Swahn (32) al comparar este método de Kunkel con el macrométodo gravimétrico de Brun (33) encontró que los valores dados por turbidimetría presentaban dispersión mayor y que algunos sueros de pacientes con gama-mieloma daban valores extremadamente altos comparados con cifras obtenidas en los mismos sueros con el método gravimétrico. La explicación propuesta por Swahn es que el fenol, uno de los reactivos usados en el método de Kunkel causa también floculación de algunas proteínas séricas y por lo tanto no es útil en la determinación del contenido total de lípidos en sueros de composición anormal en proteínas. Esta fue la razón fundamental para no emplearlo en el caso de los niños desnutridos, los cuales tienen como una de sus características bioquímicas principales, distribución anormal de sus seroproteínas: hipoproteinemia, con hiper o hipo alfa globulinemia e hipergamaglobulinemia (34) (35).

Por las razones anteriores se decidió utilizar el método de Swahn (23) el cual como ya se anotó tiene como base fundamental el hecho de que el Sudan negro es un colorante específico de los lípidos (36) y requiere únicamente 0.02 ml. de suero.

En los cuadros I, II y III se observa que en 13 de los 15 casos estudiados, los valores iniciales de lípidos fueron inferiores a lo normal y en sólo dos de ellos (R. R. J. y C.H. R. G.) estuvieron dentro de los límites normales. Este hallazgo puede correlacionarse con el hecho de que la dieta consumida por estos niños con desnutrición, es pobre en grasa, fundamentalmente en grasa de origen animal (37). Debe considerarse que la desnutrición que padecen estos niños es crónica, ya que

durante la inanición aguda la grasa corporal es movilizada de sus depósitos y a través del torrente circulatorio es llevada al hígado y a otros tejidos, tales como el muscular en donde es oxidada; de esta manera se tiende a establecer un estado de equilibrio entre la movilización y la velocidad de utilización. Mientras los tejidos tengan grasa que pueda movilizarse, el nivel de lípidos puede ser normal y aún estar aumentado.

Aún cuando la dieta en niños desnutridos es relativamente alta en hidratos de carbono, el consumo total de calorías solo cubre un promedio de 50% de los requerimientos y por lo tanto, aún cuando se ha reportado que la deficiencia de hidratos de carbono en la dieta produce hiperlipemia, el efecto de la baja ingestión de grasa, es probable que enmascare el alza que pudiera deberse al consumo deficiente de azúcares.

De interés es el mencionar que el efecto del ayuno varía según la especie animal que se estudia y aún la edad del animal estudiado. Así por ejemplo, Greene y Summers (38) reportaron un incremento del 200% en los lípidos séricos de cachorros de perros durante el ayuno, pero no pudieron encontrar cambio alguno en perros adultos sujetos a inanición prolongada.

Chaikoff y su grupo (39) no encontraron aumento de la lipemia, en perros adultos a los que hicieron ayunar hasta por 30 días, pero al producirles desnutrición caracterizada por pérdida marcada de peso, el colesterol, los ácidos grasos y los fosfolípidos de la sangre disminuyeron.

En sus estudios sobre ratas, Kohn (40) ha reportado que la respuesta al ayuno depende de la cepa con que se trabaje y al parecer la respuesta tiene una base genética en la que están involucrados diversos genes.

En lo que se refiere a la especie humana, Mann y su grupo (41) que han estudiado de modo intensivo variaciones fisiológicas y patológicas en adultos humanos, han establecido que durante la inanición aumenta el nivel de lípidos sanguíneos y que los cambios tanto en colesterol como en fosfolípidos son paralelos a incrementos de cuerpos cetónicos circulantes, los cuales aparecen en cantidades apreciables cuando el ayuno se continúa por más de 6 días. En 1940 Blix (42) encontró que el contenido de triglicéridos en la sangre en individuos en ayuno

era de 30 a 70 mg. %, en lugar de 150 a 250 mg. % que había sido la cifra control.

En esta pequeña serie de casos estudiados no se encontró diferencia en los valores iniciales atribuible al sexo. Esto está de acuerdo con los trabajos de Bloor (43), Peters y Mann (44) y Offenkrantz y Karshan (45).

Van der Sar (46) ha reportado valores normales en 11 de 16 niños desnutridos, en 5 de los 16 casos hubo franca hiperlipemia, por el contrario Bloem y Newmann (47) al igual que Calvalho (48) encuentran valores por debajo de lo normal de fosfolípidos atribuyéndolo a deficiencia de colina, metionina y lecitina. Dricot, Beheyt y Charles (49) encontraron valores elevados de lípidos totales en 8 niños estudiados, 4 de ellos presentando niveles de colesterol por debajo de lo normal.

Como puede verse, los lípidos totales en suero pueden estar normales, elevados o bajos y al parecer esto depende fundamentalmente del tiempo que lleve la desnutrición y de la ingestión de grasa en los días anteriores a la determinación. En nuestros casos todas las determinaciones se hicieron antes del tercer día de ingreso al hospital.

COLESTEROL: Al igual que los lípidos totales, las cifras iniciales de colesterol fueron bajas, con excepción de los mismos dos casos que tuvieron valores normales de lípidos totales. Estos datos están de acuerdo con Brull (50) quien estudió 100 adolescentes de 12 a 19 años de edad durante la ocupación alemana de Bélgica, encontrando 120 mg. % de colesterol como promedio y también están acordes con los reportes de Simonart (51) quien encontró un promedio de 122.8 mg. % en 10 prisioneros severamente desnutridos y con los datos reportados en voluntarios humanos por Keys y colaboradores (22) en sus experimentos de Minnesota. Keys y su grupo encontraron disminución significativa de colesterol, sin cambio en los niveles de lípidos totales. La explicación que dan a este fenómeno consiste en proponer que la grasa corporal perdida durante el período de semianiciación, junto con la grasa administrada en la dieta, fué metabolizada de modo completo por el organismo y de esta manera, los niveles séricos se conservaron. Así mismo, la cetosis estuvo ausente. Desgraciadamente en los experimentos de Minnesota no se reportan los valores individuales y sólo los promedios.

En los casos estudiados por nosotros existe la peculiaridad de que a pesar de que la pérdida de peso, medida por la diferencia entre el peso actual y el peso medio teórico para la edad es de más del 40% (desnutrición de tercer grado), el pániculo adiposo subcutáneo y la grasa hepática se encuentran aumentados de modo relativo. El niño R. A. J. fué el único que no presentó edema clínicamente demostrable, perteneciendo a un grupo de desnutridos entre cuyas características está la de no desarrollar esteatosis hepática y cuyo pániculo adiposo subcutáneo se encuentra muy disminuído. Los análisis químicos del contenido graso en tejido subcutáneo apoyan el punto de vista anterior tomado de observaciones de biopsias (52). Es decir, que nuestro material y el de Keys (22) difieren en edad y en que el pániculo adiposo se encuentra conservado. Quizá esto explica los resultados obtenidos.

La deficiente ingestión de grasa es característica de sujetos que padecen desnutrición, ingestión crónicamente deficiente en particular de grasas derivadas de productos animales. Esto está de acuerdo con los estudios de Walker y Arvidsson (53) en Africa del Sur quienes compararon los niveles de colesterol en tres grupos cuya ingestión de grasa era diferente no sólo en la cantidad total, sino en la proporción de grasa animal y grasa vegetal. De 218 individuos estudiados cuya edad varió de 19 a 93 años, se encontró que el grupo con ingestión pobre en grasa tenía niveles de colesterol inferiores a lo normal. Menos del 20% del total de calorías en la dieta de estos individuos eran proporcionadas por grasa y esta grasa provenía fundamentalmente de alimentos de origen vegetal. Estos autores señalan que la dieta consumida por los Bantúes es de alto residuo y que quizá ésto pueda influir sobre el metabolismo del colesterol. Las dietas consumidas por nuestros niños son en cierto modo semejantes, esto es, pobres en grasas y compuestas casi exclusivamente de productos vegetales, por lo tanto la influencia que el alto residuo pueda tener, no se puede eliminar como uno de los factores responsables de la baja cifra de colesterol. Cifras semejantes así mismo a las de los pobladores de Nigeria en los cuales Mann y su grupo (54) encontraron niveles significativamente más bajos de colesterol que los usualmente presentes en pobladores de E. U. de Norte América y que son una confirmación de los datos reportados por Mann, Muñoz y Scrimshaw (55) en nativos de Guatemala y por Keys y asociados (22) en sus estudios llevados a cabo en España, Italia (Cerdeña),

Nápoles, Bolofia y Milán), Suecia, Unión Sud Africana y E. U. (Minnesota). En este último trabajo se pudieron correlacionar los niveles de colesterol sanguíneo directamente al total de calorías proporcionadas por la grasa consumida en las dietas habituales ingeridas en las distintas poblaciones encuestadas.

En los niños desnutridos además de ser la dieta pobre en grasa como ya se dijo y sobre todo en grasa animal, Gómez y colaboradores (56) han señalado que estos niños absorben un promedio del 50% de la grasa ingerida. Así pues, esto traería como consecuencia una reducción mucho mayor en la cantidad de grasa que realmente se incorpora al organismo. Además la deficiente ingestión crónica produce un estado de "Stress" y Mann y White (57) de sus estudios en perros normales han concluido que los factores que producen Stress tales como la inanición causan caída marcada en el nivel del colesterol. Esta caída es reproducida por el tratamiento con A. C. T. H. pero no con cortisona. Conn y asociados (58) por otra parte han demostrado que el efecto del A. C. T. H. se presenta también en sujetos normales y los datos de Knowlton y su grupo (59) están de acuerdo con estos conceptos.

Porque algunos niños tienen cifras normales no obstante tener aparentemente las mismas dietas y el mismo defecto en la absorción, es algo para lo cual no tenemos explicación, pero ciertamente el hecho de que conserven grasa en depósitos calificados como movilizables debe hacer pensar en la posibilidad de un defecto en la remoción de grasa.

LIPOPROTEINAS: El método empleado para la separación de las alfa y beta lipoproteínas, fué también propuesto originalmente por Swahn (32) posteriormente Durrum (60) ha usado este mismo método y en reciente publicación comparó los resultados electroforéticos con los obtenidos en ultracentrifuga, considerando como alfa lipoproteínas la fracción S_4 0.20 y encontró correlación directa entre ambos métodos. La única variante empleada por nosotros fué el usar un suero cuyo contenido en lípidos se determinó previamente por un método gravimétrico en lugar de la trioleína recomendada por Durrum. Esto fué debido a que diferentes lípidos se combinan con diferentes cantidades de colorante y no se conoce la composición relativa de cada uno de los que forman los lípidos del suero de nuestros enfermos, se consideró que su propio estandar sería más conveniente. En otras palabras, los va-

lores que se expresan en miligramos son calculados a partir de los miligramos determinados como lípidos totales usando el mismo método de coloración. Se determinaron únicamente dos fracciones lipoprotéicas la llamada de "principio" que contiene fundamentalmente quilomicrones se cuantó como parte del área de las beta lipoproteínas, siguiendo en esto a Durrum.

En nuestro material la fracción alfa de las lipoproteínas varió desde cero en A.T.A. hasta un máximo de once por ciento en el niño R. O. M., estos valores deben considerarse muy inferiores a los que se presentan tanto en niños como en adultos normales y sobre todo con los niveles encontrados por Rafstedt (30) quien al estudiar lipoproteínas en niños recién nacidos a término y durante los primeros días después del nacimiento, encontró, que los porcentajes de la fracción alfa son alrededor de 40% en el momento de nacer y disminuyen progresivamente alcanzando valores del 29% hacia el 10. día. En cifras absolutas tanto las alfa como las beta lipoproteínas mostraron elevaciones durante este tiempo, el aumento de la fracción beta llegó a ser en ocasiones superior al 100% sobre el valor inicial. En prematuros Rafstedt encontró en el momento del nacimiento cifras promedio de 40% para la fracción alfa, disminuyendo hasta un valor de 31% entre los 3 y los 26 días posteriores. En niños de 2 a 14 años de edad reporta cifras promedio alrededor de 30% para las alfa lipoproteínas.

Durrum y su grupo (60) en individuos adultos con edad promedio de 47.8 años encontraron valores de $19.4 \pm 6.6\%$ para la fracción alfa, de manera que si tomamos el promedio menos dos desviaciones estándar, nuestros casos vendrían a caer dentro de los valores extremos inferiores de Durrum. En el mismo trabajo los autores citados estudiaron 17 individuos con edad promedio de 50.4 años que estaban hospitalizados debido a infarto del miocardio y reportan para este grupo $14.3 \pm 5.8\%$ de alfa lipoproteínas. Los valores iniciales en nuestros niños estarían muy cercanos al promedio menos una desviación estándar de las cifras señaladas en los pacientes con infarto. Desgraciadamente, pensamos que 15 casos estudiados por nosotros no son suficientes para establecer una comparación estadística, pero el hecho de la gran similaridad en los valores porcentuales de la fracción alfa entre niños gravemente desnutridos y pacientes con infarto del miocardio, señala la necesidad de una mues-

tra mayor en los desnutridos. Debemos recordar aquí que los valores para colesterol son sin embargo opuestos, es decir, los pacientes con infarto presentan concentraciones altas de colesterol, en tanto que los niños desnutridos muestran bajas considerables en todos los casos excepto dos.

RECUPERACION: En las gráficas 2, 3, 4 y 5 se muestran las variaciones observadas durante el curso de la recuperación, en lo que respecta a lípidos totales así como colesterol total y lipoproteínas. Los dos casos en los cuales los valores de lípidos totales fueron normales, muestran disminución progresiva de dichos niveles y todos los demás casos por el contrario aumento progresivo que en algunos casos fué hasta de 100% sobre el valor inicial.

La cifra de colesterol en los 15 casos sufrió incrementos variables existiendo relación directa entre el aumento del colesterol y el aumento de los lípidos totales.

Por lo que se refiere a las lipoproteínas, los valores absolutos de éstas aumentaron tanto en la fracción alfa como en la beta. Es obvio que si los lípidos del plasma se encuentran prácticamente todos bajo la forma de lipoproteínas (19) y la fracción de quilomicrones se cuantéó como parte del área de las beta lipoproteínas, los aumentos en las cifras de lípidos totales tendrán que reflejarse en las lipoproteínas, pero si se considera ésto, no en valores absolutos sino en por ciento del área total, se observa que la tendencia encontrada fué aumento progresivo de la fracción alfa, este fenómeno puede considerarse como constante aún cuando en algunos casos hubo valores intermedios que mostraron disminución con respecto al valor anterior.

Pocos estudios existen acerca de la influencia de la desnutrición grave sobre las proporciones relativas de alfa y beta lipoproteínas, sin embargo Macheboeuf y Rebeyrotte (61) reportaron que sus preparaciones de lipoproteínas de caballo (C. A. M.) tuvieron concentraciones de lípidos de un 40% cuando los caballos estaban desnutridos y que la proporción obtenida en animales en buen estado de nutrición tenía valores superiores al 40%.

Rafstedt (30) en sus estudios sobre niños normales encontró que tanto el colesterol como los lípidos totales aumentan poco durante los primeros días de la vida si las dietas son pobres en grasa, pero los aumentos son mayores si la dieta contiene mayor cantidad de este nutriente.

El tratamiento a que se sujetaron los niños desnutridos durante la recuperación, consiste en dieta balanceada la cual proporciona alrededor de 30 a 35% del total de calorías como grasa, predominando la grasa de origen animal (grasa de leche). Se antoja lógico, pues, considerar que uno de los factores principales responsables del incremento en los lípidos y por lo tanto en sus fracciones, sea debido al aumento en la ingestión de grasa, no obstante, es importante señalar que en los dos niños en los cuales hubo disminución de la cantidad de lípidos totales a medida que la recuperación se produjo, tuvieron el mismo régimen dietético. Como no se conoce con seguridad el momento metabólico de estos sujetos, no se puede por el momento ofrecer ninguna explicación acerca del comportamiento diferente de estos niños.

El hecho que destaca en el presente estudio, son las modificaciones en las fracciones alfa y beta lipoprotéicas, fenómeno que como ya se dijo es anormal para la edad y recuerda los valores encontrados en adultos con arterioesclerosis. Si bien es cierto que el número de casos no es suficiente para establecer conclusión alguna, sí es conveniente recordar que en condiciones normales las fracciones lipoprotéicas además de tener vidas medias propias, se transforman unas en otras. Pierce (62) inyectando fracciones de lipoproteínas a conejos normales encontró que pocas horas después de la inyección las lipoproteínas con valores S_r elevados se iban transformando en lipoproteínas con valores S_r menores. La conversión siempre se hizo de S_r altos a S_r bajos y la inyección de la clase S_r 5-15 desapareció en el suero sin que en ningún momento apareciera como fracción de mayor S_r . La velocidad de desaparición fué inversamente proporcional a la clase S_r , esto es, que a medida que el valor S_r fué menor, la lipoproteína tardó más tiempo en convertirse en clase inferior o en desaparecer.

En niños con síndrome nefrótico y en normales, el Dr. Gitlin (63) de la Universidad de Harvard ha encontrado el mismo fenómeno descrito por Pierce en los conejos, con la circunstancia de que en los niños con síndrome nefrótico existe bloqueo, al parecer de naturaleza enzimática en la velocidad de conversión de lipoproteínas de clase elevada a clases menores y Gitlin piensa que ésta es la explicación probable de la hiperlipemia característica del síndrome nefrótico. Esta idea está de acuerdo con los estudios de Bally (64) quien encontró que los cambios en el patrón de lípidos del síndrome nefrótico experimental en la rata,

se presentan tan tempranamente como las alteraciones en el patrón proteico.

Por otra parte el aislamiento de un polipéptido movilizador de grasa encontrado por Seifter y Baeder (65) tanto en hombres como en animales, introduce una variante más que debe estudiarse, ya que es de suponer que niños tan severamente desnutridos cuya síntesis de proteínas está limitada por la ingestión tan defectuosa de los materiales nutritivos indispensables, puedan tener dificultad en la síntesis de compuestos con funciones altamente específicas, tales como este factor movilizador, el cual podría ser sintetizado en cantidades normales al reanudarse la alimentación adecuada.

Mann, Stare y Nicol (54) en sus estudios sobre habitantes de Nigeria encontraron que la cantidad de lipoproteínas de la fracción S_r 12-20 eran inferiores a las encontradas en E. U. de Norte América. La diferencia es estadísticamente significativa al nivel de 0.05.

Si aceptamos con Durrum (60) que la fracción determinada como alfa lipoproteínas por la técnica de electroforesis en papel y coloración subsecuente con Sudan negro representa las alfa lipoproteínas S_r 0.20, los datos del presente reporte serían semejantes a los de Mann y su grupo sólo que en cantidades más bajas aún que las reportadas por estos autores.

Dado que los valores de lípidos totales fueron progresivos, pensamos en que la explicación fundamental radicara en el incremento en el metabolismo corporal producido por la ingestión de dieta más adecuada. Sin embargo, es probable que si existe defecto en la movilización de la grasa de los depósitos corporales durante la etapa de desnutrición severa, este bloqueo se suprimiera durante la recuperación.

Estudios acerca de la velocidad de conversión de las lipoproteínas ayudarían en el esclarecimiento de estos problemas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Se presenta el estudio de 15 niños crónicamente desnutridos en los cuales por medio de micrométodos que utilizan en total 0.54 ml. de suero, se determinaron los niveles séricos de lípidos totales, colesterol total y alfa y beta lipoproteínas.

Las lipoproteínas se separaron por electroforesis en papel y sus valores se determinaron después de coloración específica con Sudan negro como porcentajes de area por planimetría.

Cifras bajas de lípidos totales, colesterol total y valores absolutos de alfa y beta lipoproteínas caracterizaron al grupo en su estudio de desnutrición grave.

La recuperación se caracterizó por el incremento progresivo de los lípidos y sus fracciones. Este incremento en ocasiones sobrepasó el 100% del valor inicial.

Destacó como hecho más notable el hallazgo de reducción en la cifra porcentual de las alfa lipoproteínas.

Sólo 2 de los 15 niños estudiados mostraron concentraciones de lípidos totales en niveles normales, estos dos casos disminuyeron sus lípidos durante la recuperación, no obstante la fracción alfa y el colesterol aumentaron al igual que en los 13 casos restantes.

Se hacen consideraciones sobre la ventaja de los métodos analíticos empleados, sobre todo en lo que se refiere a sencillez, empleo de pequeña cantidad de suero y exactitud.

Se establecieron comparaciones con datos similares o discrepantes aparecidos en la literatura y se hacen comentarios acerca de la importancia de los hallazgos, proponiendo la forma de esclarecer algunas de las posibilidades de interpretación que se mencionan.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Brody, S.: Facts fables and falacies on feeding the world population. Fed. Procc. 2: 681 (1952).
- 2.—Deul, H. J.: The lipids. Interscience Publishers, London and New York. (1951).
- 3.—Lovern, J. A.: The chemistry of lipids of biochemical significance. Methuen & CO. LTD. London (1955).
- 4.—Folch, J.: Complete fractionation of brain cephalin: Isolation from it of phosphatidyl serine, phosphatidyl ethanolamine and diphosphoinositide. J. Biol. Chem. 177: 497 (1949).
- 5.—Feulgen, R. and Voit, K.: Pflug. Arch. ges. Physiol. 206: 390 (1924). citado por 3.
- 6.—Carter, H. E., Glick, F. J., Norris, W. P. and Phillips, G. E.: Biochemistry of the sphingolipides. III Structure of sphingosine. J. Biol. Chem. 170: 285 (1947).
- 7.—Klenk, E. and Rennkamp, F.: Hoppe-Seyl. Z. 273: 253 (1942). Citado en 3.
- 8.—Svennerholm, L.: Acta Chem. Scand. 8: 1108 (1954). Citado en 9.
- 9.—Bengsten, K. K. and Svennerholm, L.: The anticoagulant effect of brain gangliosides. Acta Chem. Scand. 9: 1046 (1955).
- 10.—Klenk, E. and Langerbeins, H. Z.: Physiol. Chem. 270: 185 (1941). Citado en 12.
- 11.—Folch, J., Arsove, S., and Meath, J. A.: Isolation of brain strandin. A new type of large molecule tissue component. J. Biol. Chem. 191: 819 (1951).

- 12.—Svennerholm, L.: The quantitative estimation of cerebroside in nervous tissue. *J. of Neurochemistry*, 1: 42 (1956).
- 13.—Chatagnon, C. and Chatagnon, P.: *Bull. Soc. Chem. Biol.* 35: 1319 (1953). Citado por 12.
- 14.—Parker, F. P.: *A textbook of clinical pathology*. The Williams & Wilkins Company (1948).
- 15.—Oncley, J. L., Melin, M., Richetr, D. A., Cameron, J. W. and Cross, P. M.: The separation of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen and beta lipoproteins into subfractions of human plasma. *J. Am. Chem. Soc.* 71: 541 (1949).
- 16.—Lever, W. F., Gurd, F. R. N., Uroma, E., Brown, R. K., Barnes, B. A., Schmid, K. and Schultz, E. L.: Quantitative separation and determination of the protein components in small amounts of normal human plasma. *J. Clin. Invest.* 30: 99 (1951).
- 17.—Dervichian, D. G.: Lipoproteins of human plasma. *Disc. Faraday Soc.* No. 6: 7 (1949).
- 18.—Oncley, J. L., Scatchard, G. and Brown, A.: Physicalchemical characteristics of certain of the proteins of normal human plasma. *J. Phys. and Colloid. Chem.* 51: 184 (1947).
- 19.—Gurd, F. P., Oncley, J. L., Edsall, J. T., and Cohn, E. J.: Lipoproteins of human plasma. General discussion. *Faraday Soc.* No. 6: 70 (1949).
- 20.—Hack, M. H., Snavely, J. R. and Ferguson, E. B.: *Fed. Pros.* 13: 223 (1954).
- 21.—Whol, G. M. and Goodhart, S. R.: *Modern nutrition in health and disease*. Lea & Febiger, Philadelphia (1955).
- 22.—Keys, A., Brozek, J. and Henschel, A.: *The biology of human starvation*. Minnesota Press, (1950).
- 23.—Swahn, B.: A new micromethod for the determination of total lipids in serum. *Scandinav. J. Clin. & Lab. Invest.* 4: 247 (1952).
- 24.—De la Hueraga, J., Yesinick, Ch. and Popper, J.: Estimation of total serum lipids by a turbidimetric method. *Am. J. Clin. Pathology*, 23: 1163. (1953).
- 25.—Zlatkis, A., Zak, B. and Boyle, A. J.: A new method for the direct determination of serum cholesterol. *J. of Lab. and Clin. Med.* 41: 486 (1953).

- 26.—Kunkel, H. G., and Fischus, A.: Electroforesis of proteins on filter paper. *J. Gen. Physiol.* 35: 89 (1951).
- 27.—Blix, G.: *Acta Med. Scand.* 64: 142 (1926) Citado en 2.
- 28.—Sperry, W. M. and Webb, M.: The effect of increasing age on serum cholesterol concentration. *J. Biol. Chem.* 187: 107 (1950);
- 29.—Rafstedt, S. & Swahn, B.: Studies on lipids, proteins and lipoproteins in serum from newborn infants. *Acta Pedit.* 43: 221 (1954).
- 30.—Rafstedt, S.: Studies on serum lipids and lipoproteins in infancy and childhood, *Berlingska Boktryck Reriet*, Lund, 1955. Sweden.
- 31.—Kunkel, H. G. & Eisenmerger, W. J.: Application of turbidimetric method for stimation of gamma globulin and total lipids to study of patients with liver disease. *Gastroenterology.* 11: 499 (1948).
- 32.—Swahn, B.: Studies on blood lipids, *Scandinav. J. Clin. & Lab. Invest.* 5: 9 (1953).
- 33.—Brun, G.: Lipoidforbestemmelse i serum. *Bibliot. Laeger.* 131: 203 (1939).
- 34.—Gómez, F., Ramos Galván, R., Cravioto, J.: Estudios sobre el desnutrido. V. Las proteínas y sus fracciones en el pre-escolar clínicamente sano y en el desnutrido. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 7: 497 (1950).
- 35.—Dean, R. F. A. and Schwartz, R.: Serum chemistry in kwashiorkor. *Brit. J. Nutr.* 7: 131 (1953).
- 36.—Cain, A. J.: The histochemistry of lipoids on animals. *Biol. Revs. Cambridge Philosoph. Soc.* 25: 73 (1950).
- 37.—Ramos Galván, R.: Kwashiorkor and protein malnutrition. Carta al editor. *Lancet.* 2: 1344 (1955).
- 37.—Greene, C. W. and Summers, W. S.: *Am. J. Physiol.* 40: 146 (1916) Citado en 2.
- 39.—Enterman, C., Changus, G. W., Gibbs, G. E. and Chaickoff, I. L.: The response of lipid metabolism to alterations in nutritional state. I-The effects of fasting and chronic undernutrition of the blood lipids. *J. Biol. Chem.* 134: 59 (1940).
- 40.—Kohn, H. I.: Changes in plasma of the rat during fasting and influence of genetic factors upon sugar and cholesterol levels. *Am. J. Physiol.* 163: 410 (1950).
- 41.—Man, E. B. and Gildea, E. F.: Variations in lipemia of normal subjects. *J. Biol. Chem.* 119: 769 (1937).
- 42.—Blix, G.: *Biochem. Z.* 305, 145 (1940) Citado en 2.

- 42.—Blix, G. *Biochem. Z.* 305, 145 (1940) Citado en 2.
- 43.—Bloor, W. R.: The distribution of the lipoids in human blood. *J. Biol. Chem.* 25: 577 (1916).
- 44.—Peters, J. P. & Man, E. B.: The interrelations of serum lipids in normal persons. *J. Clin. Invest.* 22: 207 (1943).
- 45.—Offenkrantz, F. M. & Karshan, M.: Serum cholesterol values for children. *Am. J. Dis. Child.* 52: 784 (1936).
- 46.—Van der Sar, A.: Incidence and treatment of kwashiorkor in Curacao. *Docum. Neerl. Indons. Morb. Trop. Amsterdam.* 3: 25 (1951).
- 47.—Bloem, T. F. and Newmann, H.: Effect of choline on certain forms of edema. *Lancet*, 1: 827, (1953).
- 48.—Calvalho, M.: Contribuicao ao tratamento da distrofia pluricarenal hidropigenica. *Hospital. Rio de J.* 32: 307 (1947).
- 49.—Dricot, C., Behey, P. and Charles, P.: Contribution a l'etude du kwashiorkor. *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.* 31: 581 (1951).
- 50.—Brull, L.: Les e'tats de carence en Belgique pendant l'occupation allemande 1940-1945. Soled, Liege; Hermann, pag. 286. Paris 1945.
- 51.—Simonart, A.: Quelques observations pathologiques faites au camp de Buchenwald, peut-etre en rapport avec la malnutrition. *Acta Gastro-enterol. Belg.* 9: 21 (1946).
- 52.—Frenk, S., Metcoff, J., Gómez, F., Cravioto, J., Antonowicz, I.: Intracelular composition and homeostatic mechanisms in chronic severe malnutrition. II. Tissue composition in chronic severe infantile malnutrition. *Pediatrics.* (En prensa).
- 53.—Walker, A. R. P. and Arvidsson, U. B.: Low fat intake and the age trend of serum cholesterol concentration in the south African Bantu. *J. Clin. Invest.* 2: 1358 (1954).
- 54.—Mann, G. V., Nicol, B. M., and Stare, F. J.: The beta lipoprotein and cholesterol concentration in sera of nigerians. *British. Medical. J.* 2: 1008 (1955).
- 55.—Mann, G. V., Muñoz, J. A. and Scrimshaw, N. S.: The serum lipid levels of ce tral americans compared with those of north american adults. *Fed. Procc.* 13: 467 (1954).
- 56.—Gómez, F., Ramos Galván, R., Cravioto, J., Frenk, S., Vázquez, J. S. and De la Peña, G.: Fat absorption in chronic severe malnutrition in children. *Lancet.* 2: 121 (1956).
- 57.—Mann, G. V. and White, S. H.: The influence of stress on plasma cholesterol levels. *Metabolism.* 2: 47 (1953).

- 58.—Conn, J. W., Vogel, W. D., Lours, L. H. and Fajans, S. S.: Serum cholesterol a probable precursor of adrenal cortical hormones. *J. Lab. Clin. Méd.* 35: 504 (1950).
- 59.—Knowlton, A. I., Jailer, J. M., Hamilton, H. H. and Weili, R.: Effects of pituitary adrenocorticotrophic hormone (A. C. T. H.) in panhypopituitarism of long standing and mixedema. *Am. J. Med.* 8: 269 (1950).
- 60.—Jencks, W. P., Hyatt, R. H., Jetton, M. R., Mattingly, T. W. and Durrum, E. L.: A study of serum lipoproteins in normal and atherosclerotic patients by paper electrophoretic techniques. *J. Clin. Invest.* 9: 980 (1956).
- 61.—Macheboeuf, M. and Rebeyrotte, P.: Lipoproteins. *Disc. Faraday Soc.* No. 6: 62 (1949).
- 62.—Pierce, F. T.: The interconversion of serum lipoproteins in vivo. *Metabolism.* 3 (2): 142 (1954).
- 63.—Gitlin, D. Comunicación Personal.
- 64.—Bally, P. R.: Studies on phospholipid and cholesterol metabolism in liver and kidney of rats with experimental nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 6: 688 (1956).
- 65.—Scifter, J. and Baeder, D. H.: Occurrence in plasma of an extractable lipid mobilizer. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 91: 42 (1956).