

## SESION DE POSTERS V

### Lipoproteínas

#### POSTER N° 78

RELACION ENTRE LA ACTIVIDAD LIPOPROTEIN-LIPASA POST-HEPARINICA Y LOS TRIGLICERIDOS PLASMATICOS  
E. Herrera, M. Maties y M. Díaz, Servicio de Bioquímica, Centro Ramón y Cajal, Madrid-34

La actividad lipoprotein-lipasa post-heparínica (LPL-PH) corresponde principalmente al enzima procedente del tejido adiposo (TA), pero también posee componentes de lipasa de otros tejidos. Aunque es bien conocido que la LPL juega un papel fundamental en la captación de triglicéridos (TG) por los tejidos extrahepáticos, los cambios en su actividad difieren de unos a otros. Así, nosotros hemos encontrado que la LPL en la rata aumenta en corazón con el ayuno y con la administración de insulina, mientras que en TA varía de forma opuesta; también, al final de la gestación, mientras que la LPL en TA se mantiene baja, en glándula mamaria aumenta intensamente. Los niveles de TG plasmáticos son modulados por estos cambios. Para determinar la relación que existe entre los TG y la LPL-PH en humanos, se determinó la actividad del enzima antes y a los 10 min de la inyección i.v. de heparina (500 ó 750 U.I. en niños o adultos, respectivamente). Los TG se valoraron por método enzimático y la LPL por un método radioquímico, utilizando como sustrato trioleína-<sup>14</sup>C-albúmina-lecitina en glicerol. En individuos sanos, la actividad LPL-PH fue superior en niños que en adultos, mientras que los TG estaban más bajos en los primeros. En niños de 2 a 13 años se observó una correlación lineal-negativa ( $p < 0.001$ ) entre los TG y la LPL-PH en plasma. En situaciones patológicas con LPL-PH baja, los TG estaban altos. Esta relación inversa también ocurre entre los % de pre-beta-LP, obtenidos en lipidogramas y la LPL-PH, pero no hay correlación entre estos parámetros en individuos sanos. Estos resultados ponen de manifiesto el valor de la LPL-PH en el diagnóstico de las hipertriglicéridemias, y permiten sugerir que las variaciones encontradas en la edad infantil son un reflejo de los cambios en la LPL de TA.

#### POSTER N° 79

APLICACION DE LOS PORCENTAJES ELECTROFORETICOS Y DE LA FORMULA DE FRIEDEWALD EN EL ESTUDIO DE LAS LIPOPROTEINAS.  
J.A. GOMEZ, J. SERRAT.  
Servicio de Bioquímica. Hospital de la Santa Cruz y San Pablo. Avda S. Antonio M<sup>o</sup> Claret, 167. Barcelona-25

Debido a la amplia difusión que tienen en nuestro medio, tanto la electroforesis de lipoproteínas como el uso de la fórmula de Friedewald para el diagnóstico de las dislipemias, nos hemos propuesto la comparación de los resultados que se obtienen de la aplicación de los porcentajes electroforéticos sobre colesterol y fosfolípidos totales, y de la aplicación de la fórmula de Friedewald, con los obtenidos utilizando la ultracentrifugación preparativa (técnica de elección).

Los métodos utilizados han sido los siguientes:  
Colesterol, Allain y col. Clin.Chem.(1974) 20:470  
Triglicéridos, Buccolo, G. y col. Clin. Chem. (1973) 19:473  
Fosfolípidos, Takayama y col. Clin.Chim. Acta(1977) 79:93  
Ultracentrifugación (D.C.), Airfuge<sup>®</sup>, rotor A-100, 160000xg durante 2,5 h. sin ajuste de densidad. Separación de fracciones VLDL y LDL+HDL con fraccionador de microtubos Beckman. HDL, precipitación con PEG-6000, concentración final 9%. Para la electroforesis de lipoproteínas se han utilizado dos sistemas comerciales:

- (A) Electroforesis en Agarosa. Sistema Corning.
- (B) Electroforesis en Agarosa-Acrilamida, sistema Sebia (Lipofilm<sup>®</sup>).

Fórmula de Friedewald:  $C_{LDL} = TGL_{tot.} (mmol/l) \times 0.45$

RESULTADOS: Los resultados obtenidos, pueden resumirse en la siguiente tabla:

U.C.	COLESTEROL			FOSFOLIPIDOS		
	HDL	LDL	VLDL	HDL	LDL	VLDL
(A)	1.16(0.37)	4.61(1.44)	1.02(0.62)	1.29(0.33)	1.61(0.47)	0.47(0.27)
(B)	1.55(0.43)	3.73(1.36)	1.50(0.64)	0.76(0.32)	1.80(0.57)	0.69(0.28)
(C)	2.12(0.66)	3.67(1.42)	1.02(0.59)	1.14(0.51)	1.70(0.51)	0.49(0.16)

N= 54

NIVELES PLASMATICOS DE APOLIPOPROTEINAS A Y B EN ENFERMOS EPILEPTICOS CRONICAMENTE MEDICADOS.  
J. M. Alfá Robledo  
Hospital Psiquiátrico Infantil "La Atalaya"  
Ciudad Real.

Como continuación de los resultados obtenidos anteriormente, que demuestran profundas variaciones en lo tocante al metabolismo lipídico en enfermos sometidos a terapia anticonvulsivante, se evalúan, mediante inmunodifusión radial, los niveles plasmáticos de Apolipoproteínas A y B en un grupo de 78 pacientes epilépticos infanto-juveniles, comparándolos con un grupo idéntico de control. Los resultados obtenidos son:

	Probandos		Controles		Diferencia
	X	S	X	S	
Apo - A	235,5	59,95	216,4	44,6	p .05
Apo - B	84,8	20,6	83,1	24,2	NS

(Datos expresados en mg/dL)

Se evidencia, pues, un aumento del nivel de Apo - A estadísticamente significativo en el grupo de pacientes medicados, no existiendo diferencias con respecto a Apo - B.

Los presentes datos se correlacionan con los anteriormente obtenidos respecto a lípidos circulantes y sus fracciones HDL.

DETERMINACION DE DOS ACTIVIDADES DE LIPOPROTEIN-LIPASA EN PLASMA POSTHEPARINA Y EXTRACTOS TISULARES.  
J. PERES GARCIA-BUELA.- Servicio Análisis Clínicos.  
C.S. Juan Canalejo - LA CORUNA

Las muestras (0.01-0.1 ml) se incubaron por duplicado en volúmen total de 0.1 ml. de buffer Tris-ClNa durante 10 min. a 27°C. Se determinó también la actividad en presencia de 3 mg. de sulfato de protamina. Se añadió 0.9 ml. del sustrato preparado con 5 µCi gliceril-tri-1-<sup>14</sup>C-oleato, de 39-41 mCi/mmol; 113 µMol de trioleína; 200 mg. de albúmina libre de ácidos grasos; 0,6 ml. de disolución de Triton X-100 al 1% (v/v) en agua, y se ajustó a un volúmen total de 12 ml. con buffer Tris-ClNa. En las muestras de extractos tisulares se añadió al sustrato 20 U. heparina y 0.8 ml. de plasma procedente persona en ayunas. Se incubó durante 60 min. a 27°C. Se terminó la reacción y extrajeron los ácidos grasos libres con KOH 0.1 M. La actividad de los 14-FFA se midió en contador de centelleo líquido Searle-Isocap-300. La liberación total de ácidos grasos libres se calculó después de la corrección para la eficacia de la extracción y quenching. Se expresó la actividad en micromoles FFA/ml-plasma/hora.

Las muestras tisulares fueron congeladas a -20°C inmediatamente. Fueron extraídas con acetona fría, y posteriormente homogeneizadas en Potter-Elvehjen en amoníaco 0.025 M. Las muestras de plasma basales y a los 10 minutos de administración de 10-u-heparina/Kg-peso, se recogieron en tubos con 2 U-heparina/ml. sangre total. Se separó el plasma y guardó congelado a -22°C.

La actividad de lipoprotein-lipasa postheparina inactivada por protamina fue de 5,4 ± 1,6 (n=20), y la actividad resistente a la protamina fue de 14 ± 4,2 (n=20). La actividad lipoprotein lipasa en extractos tejido adiposo fue casi totalmente inhibida por la protamina, mientras que la de origen hepático no fue afectada.

LIPIDOS SERICOS, LIPOPROTEINAS Y APOPROTEINAS EN ANCIANOS  
C. Alvarez y A. Orejas  
Laboratorio de Bioquímica Clínica  
Centro Médico Nacional "Marqués de Valdecilla" Santander

Ante la falta universal de información sobre valores de referencia en ancianos se estudiaron los niveles plasmáticos de Colesterol Total (CT), Colesterol de las Lipoproteínas de Alta y Baja Densidad (HDL-C y LDL-C), Triglicéridos (TG) y Apoproteínas A y B (Apo-A y Apo-B), en una población voluntaria de 50 hombres y 95 mujeres entre 65 y 95 años, excluido previamente cualquier patología de fondo que pudiera influir en su metabolismo lipídico. Se calcularon los valores medios y límites inferior y superior de todo el grupo y en ambos sexos. Las medias de CT, LDL-C, TG y Apo-B fueron ligeramente superiores en el grupo de mujeres, mientras que HDL-C y Apo-A presentaron resultados inversos. No obstante no existieron diferencias significativas entre sexos en ninguno de los componentes analizados.

Como la edad media del grupo estaba en torno a los 80 años, se compararon hombres menores y mayores de 80 años y mujeres en iguales condiciones. Se observó un descenso de CT, LDL-C, Apo-A y Apo-B en relación con la edad más avanzada e independientemente del sexo. Únicamente se constataron diferencias significativas en LDL-C entre mujeres menores y mayores de 80 años, consistente en un descenso del valor medio en el grupo de edad más avanzada. En cuanto a los hombres se detectó una disminución de los niveles de TG y Apo-B y un aumento de HDL-C significativos en el grupo de mayores de 80 años. Al comparar los valores de los constituyentes lipídicos entre sexos, en estos grupos menores y mayores de 80 años, únicamente se encontraron diferencias significativas en HDL-C (más elevado en hombres) y TG (más elevados en mujeres) mayores de 80 años. Se discuten estos resultados y su significación en individuos longevos.

LIPIDOS PLASMATICOS EN LA INFECCION  
C. Alvarez y M<sup>a</sup> A. Ramon  
Laboratorio de Bioquímica Clínica  
Centro Médico Nacional "Marqués de Valdecilla" Santander

El metabolismo de los lípidos en la infección ha sido objeto de muy poca atención tanto clínica como experimental. Hemos estudiado las alteraciones del Colesterol Total (CT), Colesterol de las lipoproteínas de Alta y Baja Densidad (HDL-C y LDL-C), Triglicéridos (TG) y Apoproteínas A y B (Apo-A y Apo-B), en: a) 40 pacientes de alto riesgo y sepsis clínica, independientemente de la etiología y de la patología subyacente, b) grupo de enfermos con patología similar anterior pero sin complicaciones de tipo séptico y c) grupo con hemocultivo positivo pero sin clínica de sepsis. Los resultados obtenidos en este trabajo de carácter evolutivo nos permiten establecer las siguientes conclusiones: 1) En la sepsis se produce una disminución de la concentración plasmática de CT, HDL-C, LDL-C, Apo-A y Apo-B y un aumento de TG. 2) Estas alteraciones son independientes del agente causal del cuadro séptico, de la patología de fondo y de la situación clínica del enfermo. 3) La recuperación clínica de los pacientes con sepsis va paralela a la normalización de los lípidos plasmáticos. 4) La presencia simultánea de hipoproteinemia marcada y niveles muy bajos de HDL-C y la correlación positiva entre ambas en la sepsis, sugiere la existencia de un mecanismo común responsable de estas alteraciones.



ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS PARA LA DETERMINACION DEL COLESTEROL DE LAS HDL.

E. Soria y F. Fabiani

Departamento de Bioquímica Clínica (Prof. R. Goberna). Hospital Clínico Universitario. Sevilla.

Comparamos cinco métodos para la determinación del colesterol de las HDL, procedentes de cinco firmas comerciales distintas. Todos los métodos están basados en la precipitación de las LDL y VLDL.

Se han estudiado 107 sueros que fueron clasificados de la siguiente forma: HDL > 40, HDL < 40 hiperlipoproteinemias tipos IIa, IIb y IV y por último un grupo de sueros elegidos al azar.

Se hace un estudio estadístico de los métodos entre sí y con referencia a un suero control, concluyéndose que el mejor método de los estudiados es aquel que utiliza ácido fosfotungstístico 0,55 mM y cloruro de magnesio 25 mM. como reactivo de precipitación, siendo además el que menor tiempo de centrifugación y de incubación emplea.

PERFIL LIPIDICO EN PACIENTES OBESOS SOMETIDOS A UNA DIETA DE MUY BAJO CONTENIDO CALORICO

F. Fabiani, J.L. Griera, I. Rodriguez y F. Rivas.

Departamento de Bioquímica Clínica (Prof. R. Goberna) y Endocrinología Médica (Prof. S. Duran) Hospital Clínico Universitario. Sevilla

Se estudian en 92 pacientes obesos antes y después de ser sometidos a una dieta de muy bajo contenido calorico, los siguientes parámetros lipídicos: aspecto del suero, colesterol total (CT), HDL, LDL y VLDL-colesterol, triglicéridos (TG) y lipidograma en aquellos sueros que presentaban algún tipo de turbidez.

El CT, fue determinado por el método CHOD-PAP, el HDL-C por el método de precipitación con ácido fosfotungstístico y cloruro de magnesio, el LDL y VLDL-C mediante la fórmula de Friedewald y los TG por el método lipasa/esterasa y glicerokinasa.

Tras los 28 días de tratamiento, se observa en las hembras un descenso significativo de CT y HDL-C, sin que se modifique el cociente CT/HDL-C y en los varones un descenso significativo de CT, CT/HDL-C y TG.

Considerando a la población conjunta, los TG varían en función a sus niveles iniciales, y así los que los tenían inferiores a 120 mg/dl no experimentan variación y los que los tenían superiores a esa cifra experimentan un descenso significativo.

ESTUDIO DE LAS LIPOPROTEINAS DEL PLASMA Y SU RELACION CON LA CARDIOPATIA ISQUEMICA.

I. Rodríguez, F. Fabiani, J.M. Cruz, F. Cuesta y J. Oliván.

Departamentos de Bioquímica Clínica (Prof. R. Goberna) y Medicina Interna (Prof. M. Garrido) Hospital Clínico Universitario. Sevilla.

Se estudian y relacionan los perfiles lipídicos y la severidad de sus lesiones en 100 pacientes con Cardiopatía Isquémica.

En el perfil lipídico se han determinado el colesterol total, HDL, LDL y VLDL-colesterol triglicéridos y aspecto del plasma. Todos los pacientes fueron sometidos a Coronariografía y Ventriculografía izquierda para determinar la severidad de su lesión. El grado y severidad de las mismas se cuantificó mediante distintos baremos.

El colesterol total se determino por el método CHOD-PAP, el HDL-colesterol mediante precipitación con ácido fosfotungstístico y cloruro de magnesio, el LDL y VLDL-colesterol mediante la fórmula de Friedewald y los triglicéridos mediante lipasa/esterasa y glicerokinasa.

Encontramos que la mayor severidad de la arteriosclerosis coronaria da valores más altos de colesterol total, LDL y VLDL-colesterol así como valores más bajos de HDL-colesterol.

Por el contrario, no encontramos ninguna relación significativa entre la severidad de la lesión isquémica y los valores lipídicos, ya que en dicha severidad, inciden otros factores además del grado de la lesión arteriosclerótica, cual es la localización de las lesiones y el tipo de circulación coronaria.

EFFECTOS DE LOS FARMACOS ANTIEPILEPTICOS SOBRE LOS LIPIDOS PLASMATICOS Y SUS FRACCIONES HDL.

J. M. Alfa Robledo  
Hospital Psiquiátrico Infantil "La Atalaya"  
Ciudad Real.

Se estudian los efectos de los fármacos antiepilépticos (AE) más usuales (Fenobarbital, Difenhidantoina) sobre los niveles plasmáticos de Colesterol, Triglicéridos, Fosfolípidos y Ácidos Grasos Libres, así como sobre las fracciones de los tres primeros ligadas a lipoproteínas de alta densidad. La evaluación se realiza sobre un grupo de 78 niños y adolescentes epilépticos medicados crónicamente, empleando como grupo control a 78 sujetos sanos indiferenciados respecto a edad y sexo con los probandos.

No se detectan diferencias significativas respecto a nivel de ácidos grasos libres. Sí se encuentran en el resto de los parámetros, con niveles siempre superiores en el grupo de pacientes medicados. El estudio de lípidos en HDL revela un aumento del porcentaje ligado a esta fracción en todos los casos. Permanecen prácticamente inalteradas respecto al control las cantidades unidas a lipoproteínas no HDL.

Se discute la posibilidad de que los resultados obedezcan a un fenómeno inductivo de los AE sobre el sistema microsomal hepático (efecto directo sobre la biosíntesis de los lípidos) y sobre la propia síntesis de las HDL.

"VARIACIONES DE LOS PARAMETROS LIPIDICOS EN MUJERES QUE TOMAN ANOVULATORIOS"

M<sup>rs</sup>. L. ARRANZ, P. AGUADO, I. MONTEAGUDO, F. J. MARTIN y M<sup>rs</sup>. C. ALONSO.

Servicio de Análisis Clínicos. Residencia Sanitaria "Onésimo Redondo" de la Seguridad Social, Valladolid.

Se comparan los valores de colesterol total, colesterol-HDL y triglicéridos en 115 mujeres de 20 a 45 años de edad tomando anticonceptivos en un periodo de tiempo que oscila entre dos meses y cinco años, frente a dos grupos control: uno, del mismo número y edad que el grupo estudiado, y otro, de 50 mujeres menopáusicas de 55 a 70 años de edad.

Se estudia la diferencia existente para el tipo de anovulatorio que han tomado y según el intervalo de tiempo, distribuidas en dos grupos: de más de dos años, y de menos de dos años.

No se observa diferencia significativa para colesterol total, colesterol-HDL y triglicéridos del grupo que toma anticonceptivos al grupo control.

Frente al grupo de mujeres menopáusicas, se encuentran diferencias significativas para los tres parámetros.

No encontramos diferencias para el colesterol-HDL entre los dos tipos de anovulatorios mayoritarios utilizados.

Tampoco encontramos diferencias para el colesterol-HDL, según el periodo de tiempo que están tomando el anovulatorio.

EVALUACION DE 4 KITS PARA LA DETERMINACION ENZIMATICA DE LOS FOSFOLIPIDOS SERICOS.

J.M.Paz, J.C.Tutor y F.García.

Laboratorio Central del Hospital General de Galicia. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

La determinación de los fosfolípidos ligados a las lipoproteínas de alta densidad (HDL-fosfolípidos) parece tener un mayor valor que la del HDL-colesterol en el estudio de las alteraciones de estas lipoproteínas (1,2,3). Esto confiere un aumentado interés a la evaluación de técnicas enzimáticas que permitan la determinación simple y precisa de los fosfolípidos séricos.

Se han utilizado 4 equipos basados en el método de Takayama y cols. proporcionados por Wako, Poli Diagnostici, Biotrol y Biomerieux, adaptados al ARA-100. El estudio de las cinéticas de desarrollo de color, permitió en todos los casos un notable abaratamiento de costos mediante dilución del reactivo original con tampón tris/ClH 50mM (pH=7.8). La precisión intradía no alcanzó en ningún caso un CV del 1% y día a día el 2% y el error analítico total carece de significación médica según criterios de Tonks y Cotlove. En el análisis en paralelo de 122 muestras con los 4 equipos se obtuvieron unos elevados coeficientes de correlación ( $r=0.999$ ) entre sí y la diferencia entre las medias carece de significación estadística excepto en el caso del equipo Poli Diagnostici. El cromógeno de Trinder, utilizado en la reacción indicadora, presenta dos máximos de absorción a 505 y 320 nm, por lo que se estudió la adaptación del método al Centrifichem 500 en ambas zonas de longitud de onda.

1) Puchois P. y cols.: En "Actualites en Pharmacie et Biologie Cliniques", Dreux C., Bousquet P., eds. p.69, Varia Editions, 1981.

2) Tutor y cols.: Biometrica, 6, 65, 1981.

3) Paz J.M.; Med. Lab. Sci. en curso publicación.

MATERIALES DE CONTROL PARA LA DETERMINACION DE COLESTEROL DE HDL.

F.J. Gella, T. Olivella y J. Gener.

Departamento de Investigación y Desarrollo. Laboratorios Knickerbocker, S.A.E. Borrell 158. Barcelona 15.

La determinación de colesterol en lipoproteínas de alta densidad va adquiriendo una importancia creciente en la evaluación del riesgo coronario. Los llamados "métodos de precipitación" por su sencillez y por no requerir instrumentación sofisticada, son los más utilizados para el fraccionamiento de lipoproteínas. Un importante inconveniente de estas determinaciones es la ausencia de materiales de control adecuados. La mayor parte de los sueros control comerciales contienen bajos niveles de colesterol o artificialmente elevados mediante la adición de acetato de colesterol, lo que les hace inadecuados para un efectivo control del proceso de precipitación de lipoproteínas.

Nosotros hemos preparado un suero con niveles elevados de colesterol (300-350 mg/100 ml), triglicéridos (250-300 mg/100 ml) y fosfolípidos (300-350 mg/100 ml) mediante la adición, a un suero base humano, de lipoproteína de baja densidad concentrada y aislada también de suero humano. Tras la liofilización, el material de control así preparado se mantiene estable durante años. La composición de este suero, con colesterol elevado integrado en lipoproteínas, lo hace especialmente apropiado para el control del fraccionamiento de lipoproteínas por técnicas de precipitación. La no adición de materiales extraños ni de conservantes artificiales permite obtener un sobrenadante perfectamente claro y transparente en tratamientos con fosfotungstato-magnesio, polietilenglicol o heparina-manganeso.