

METABOLISMO DE LOS LIPIDOS EN RELACION CON LA ATEROESCLEROSIS

DR. EDMUNDO CALVA

EN LA ATEROESCLEROSIS los cambios degenerativos de las paredes de las arterias se acompañan de depósitos de colesterol, de glicéridos y de otros lípidos y de sus derivados. La patogenia de estas lesiones ateromatosas está relacionada, a juzgar por los datos experimentales y clínicos, con alteraciones del metabolismo de los lípidos, particularmente del colesterol y de las lipoproteínas, a la fecha aún no aclaradas.

A propósito se limita esta revisión a los aspectos generales del metabolismo de los lípidos y a algunos temas particulares de interés actual en este campo.

SINOPSIS DEL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

La mayor parte de los lípidos de los alimentos llegan al torrente circulatorio a través de los conductos linfáticos. En el período postprandial los lípidos absorbidos del intestino se reflejan sobre todo en el aumento de concentración de los triglicéridos del plasma y en menor cuantía en los niveles de fosfolípidos y de colesterol.

Las células del tejido adiposo y las del hígado retienen pronto los triglicéridos recién absorbidos y los intercambian fácilmente. Por su parte, el colesterol y los fosfolípidos de la misma procedencia los fija principalmente el hígado y sólo en mínima parte los demás tejidos (Fig. 1, véase pág. 804).

En los tejidos, incluyendo el adiposo, los lípidos son hidrolizados y se liberan ácidos grasos, glicerol y colesterol principalmente.

Por lo que hace a los ácidos grasos en particular, se derivan:

a) de los suministrados en la dieta,

- b) de los movilizados de otros tejidos, y
- c) de los sintetizados *in situ*.

Todos los tejidos son capaces de sintetizar ácidos grasos a partir de fragmentos de acetato^{1, 2} y el hígado representa el sitio más importante.³ Al parecer los ácidos saturados son sintetizados en el organismo a velocidad mayor que los no saturados.⁴ Por otra parte, el hecho de que sean indispensables en la dieta ciertos ácidos no saturados denota una limitación en esta capacidad de síntesis.⁵

Poco se sabe de las transformaciones metabólicas de los ácidos grasos de cadena larga. Los resultados experimentales muestran que la cadena de carbonos de los ácidos grasos que provienen de los alimentos puede ser alargada o acortada:⁶ el araquidonato puede formarse a partir de linoleato y de acetato⁷ con intervención de la piridoxina.⁸ También se ha observado la producción *in vivo* de ácidos grasos no saturados por deshidrogenación de los saturados.^{9, 10}

Los ácidos grasos son degradados a fragmentos de acetato.^{11, 12} En los tejidos extrahepáticos la mayor parte de estos fragmentos de dos carbonos pueden ser oxidados a través del ciclo metabólico común hasta bióxido de carbono y agua. En el hígado esta capacidad metabólica se satura con facilidad y una proporción importante de acetato se condensa formando fragmentos de cuatro carbonos. El acetoacetato así formado, junto con sus derivados, el betahidroxibutirato y la acetona, constituyen los llamados cuerpos cetónicos. Como el hígado, a semejanza del tejido adiposo, no tiene capacidad para volver a fragmentar los compuestos cetónicos, éstos pasan a través del torrente circulatorio a los tejidos extrahepáticos, particularmente a los músculos esqueléticos y al músculo cardíaco,^{13, 14} en donde son transformados nuevamente a acetato.

Los grupos acetato son los precursores del colesterol, de las hormonas esteroideas y de los ácidos grasos; intervienen en la acetilación de numerosos compuestos y son oxidados a bióxido de carbono y agua.

Tanto los lípidos de la sangre como los de los tejidos no contienen ácidos grasos de cadena corta (de cuatro a diez carbonos). Cuando estos ácidos figuran en los alimentos son liberados en el intestino y tan pronto llegan a la sangre son oxidados por los tejidos.

Por lo que se refiere a los fosfolípidos, parece probable que todos los tejidos los sintetizan aun cuando en grados muy diversos. El hígado es el órgano que libera al plasma la mayor proporción de fosfolípidos; los demás tejidos los sintetizan y los utilizan sin intervenir aparentemente en el nivel plasmático de estos compuestos.¹⁵

Los valores de los lípidos en el plasma humano aparecen relativamente

elevados cuando se les compara con los de otras especies animales. También llama la atención la gran variación en las cifras obtenidas en grupos de personas normales y la relativa constancia en el nivel de colesterol cuando se examinan determinaciones hechas en una sola persona.^{27, 49} Por esto, al juzgar de los niveles de lípidos en el plasma en un momento dado, de ser posible, se les debe comparar no con los valores promedio de un grupo, sino con cifras obtenidas para esa persona con anterioridad. Sin embargo, otros investigadores han hallado variaciones personales, sin significación patológica, en el nivel de los lípidos en el curso de los meses e independientes de la edad y del sexo y que en el caso del colesterol fueron hasta del 31 por ciento.⁵²

No es el propósito revisar la influencia que las hormonas tienen sobre el metabolismo de los lípidos y sólo se comenta brevemente la actividad de la insulina. Esta hormona activa la síntesis de los ácidos grasos a partir del acetato e indirectamente favorece así la utilización de glucosa. Asimismo, determina una disminución en la formación de cuerpos cetónicos, tanto porque canaliza la utilización de los fragmentos de acetato hacia la síntesis de los ácidos grasos como porque al favorecer la formación de oxaloacetato, derivado principalmente del metabolismo de los azúcares, favorece la oxidación del acetato por el ciclo metabólico común.

En el hígado de ratas diabéticas por aloxana disminuye la síntesis de ácidos grasos,¹⁶ al parecer se acelera la degradación del acetato a bióxido de carbono y agua,¹⁷ se acumulan fragmentos de dos carbonos y se favorece tanto la formación de cuerpos cetónicos como la síntesis de colesterol.¹⁷ A este respecto, es interesante el hecho de que tanto en los animales diabéticos por aloxana como en los no diabéticos, pero con dietas ricas en colesterol, se retarda el crecimiento y se favorece el desarrollo de lesiones dérmicas, signos ambos que se han considerado consecutivos a carencia de ácidos grasos indispensables.¹⁸ Por último, la observación clínica muestra que en la diabetes no controlada los cambios ateroscleróticos son prematuros y extensos y coinciden con niveles altos de colesterol en la sangre. En estas condiciones la conversión de acetato a colesterol se efectúa en forma aún más activa que en los no diabéticos y, en contraste, la síntesis de ácidos grasos, a partir del mismo acetato, está muy disminuida.

METABOLISMO DEL COLESTEROL

*Síntesis biológica del colesterol.*¹⁹ Los tejidos del organismo animal sintetizan colesterol a partir de fragmentos de acetato^{20, 21} y probable-

mente de acetoacetato y de algunos ácidos de cadena ramificada,^{23, 24} (Fig. 1).

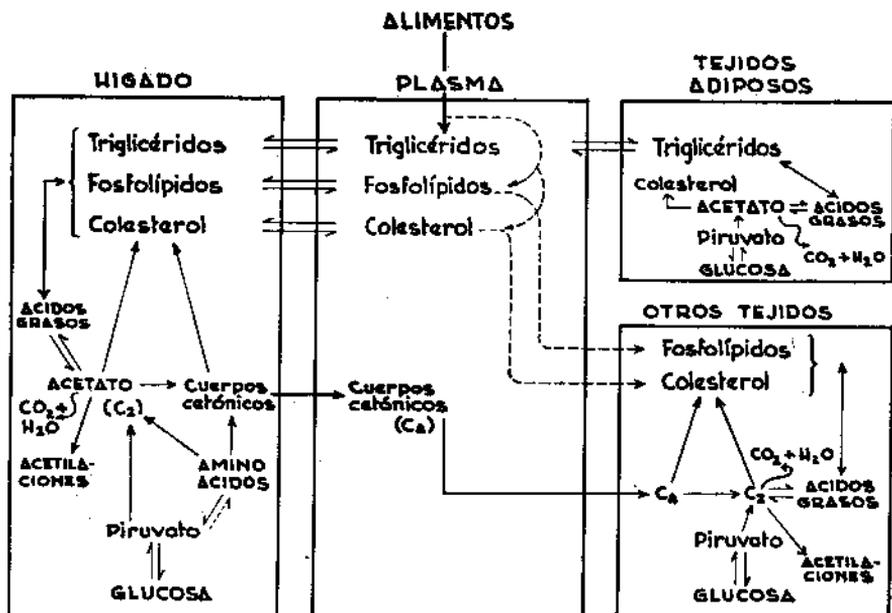


Fig. 1

El órgano principal en esta síntesis es el hígado y en forma comparable la piel;²⁵ pero es probable que todos los tejidos participen en mayor o menor grado. Entre otros, es pertinente señalar la capacidad de síntesis de las paredes de las arterias.

El colesterol del plasma sanguíneo se origina casi totalmente en el hígado y a su vez es en este órgano en donde primordialmente se deposita y se degrada. La participación de los demás tejidos en este movimiento del colesterol es mínima.

La esterificación del colesterol con ácidos grasos saturados y no saturados ocurre también principalmente en el hígado.

En los tejidos extrahepáticos se sintetizan alrededor de 500 mg. de colesterol por día y el hígado contribuye en el mismo lapso con 1,000 a 1,500 mg.; de modo que la síntesis total de colesterol es de 1,500 a 2,000 mg. diarios. Esta cifra, comparada con los 300 mg. de colesterol de las comidas comunes, resulta al menos tres veces mayor. Además los resultados experimentales muestran que la síntesis de colesterol en el organismo está regu-

lada, al menos entre ciertos límites, por la cantidad de colesterol absorbido en el intestino. Cuando disminuye la absorción aumenta su síntesis en el hígado y viceversa.^{25, 26}

Los niveles elevados de colesterol en el plasma permiten juzgar indirectamente del grado de aterosclerosis con bastante aproximación en la mayoría de los casos.²⁷ Se ha sugerido como mejor índice de relación entre la concentración del colesterol y la del fósforo de los lípidos; esta relación es más constante que los valores de ambos tomados aisladamente,²⁷ lo cual significa que los fosfolípidos y el colesterol del plasma tienden a cambiar simultáneamente en condiciones normales. Todavía es menos variable, en el plasma normal, la relación entre la concentración de colesterol no esterificado y la del colesterol total.^{27, 28} Al parecer es más importante el mantenimiento de estas relaciones que el de sus cantidades absolutas.

El aumento en la concentración del colesterol en el plasma medido en la mañana antes del desayuno, al cabo de diez horas sin alimento, cifra postabsortiva o de ayunas, puede significar:

- a) mayor cantidad sintetizada por el hígado u otros tejidos,
- b) mayor movilización de los depósitos,
- c) menor degradación catabólica,
- d) menor retención en los tejidos,
- e) menor eliminación del organismo y quizá
- f) cambios en las lipoproteínas plasmáticas, que son el vehículo del colesterol.³¹
- g) cambios en el metabolismo de otros lípidos, particularmente sugeridos por la relación observada entre ciertos ácidos grasos de la dieta y el metabolismo del colesterol,^{29, 30, 31} y

h) cambios en el metabolismo de este compuesto por influencia de las proteínas^{32 a 34} y de los carbohidratos^{31, 35} del régimen alimenticio.

Absorción, transformaciones y excreción del colesterol. La absorción del colesterol a nivel del intestino parece determinada por su esterificación con los ácidos grasos.^{36, 37}

Se ha observado en animales sometidos a dietas carentes de pantotenato, en los que, por falta de coenzima A existe deficiencia en la síntesis de los ácidos grasos, que la baja concentración así provocada de los ésteres del colesterol desaparece y aún llega a haber hipercolesterolemia al aumentarse las grasas en su dieta; lo que sugiere que los ácidos grasos endógenos y exógenos intervienen en la esterificación del colesterol a nivel del intestino.³⁸

Al parecer, la esterificación del colesterol ocurre en el bolo intestinal antes de su paso por la mucosa³⁹ y bajo la influencia de la bilis y de una

esterasa específica del páncreas.^{39 41} Sin embargo también se ha propuesto la existencia de una enzima esteroespecífica que activaría la transferencia del colesterol de la luz intestinal al sitio de la esterificación, en cuyo caso la absorción precedería a la formación de los ésteres.⁴⁰ Además se han presentado datos experimentales de los que se concluye que las condiciones en el contenido intestinal favorecen la hidrólisis de los ésteres del colesterol y que los ácidos grasos no esterificados tienen un efecto estimulante directo sobre la absorción de este compuesto al provocar una mayor excreción de fosfolípidos por la bilis. Estos lípidos, como se sabe, son un factor determinante en la solubilización o dispersión del colesterol y por lo tanto, su presencia, particularmente de lecitinas, favorecería la absorción directa.⁴²

Las sales biliares son importantes en la absorción del colesterol tanto porque emulsifican el colesterol libre, que no es soluble en agua, como porque disuelven en el medio acuoso del intestino los ácidos grasos que, a su vez, favorecen la absorción de este compuesto.

Por su parte, el colesterol está involucrado en la absorción y transporte de los ácidos grasos, a juzgar por la importancia que tiene en los efectos de los ácidos sobre el crecimiento de los animales.⁴⁹

El colesterol y sus ésteres absorbidos en el tracto intestinal son transportados por la linfa a la sangre³⁶ (Fig. 2).

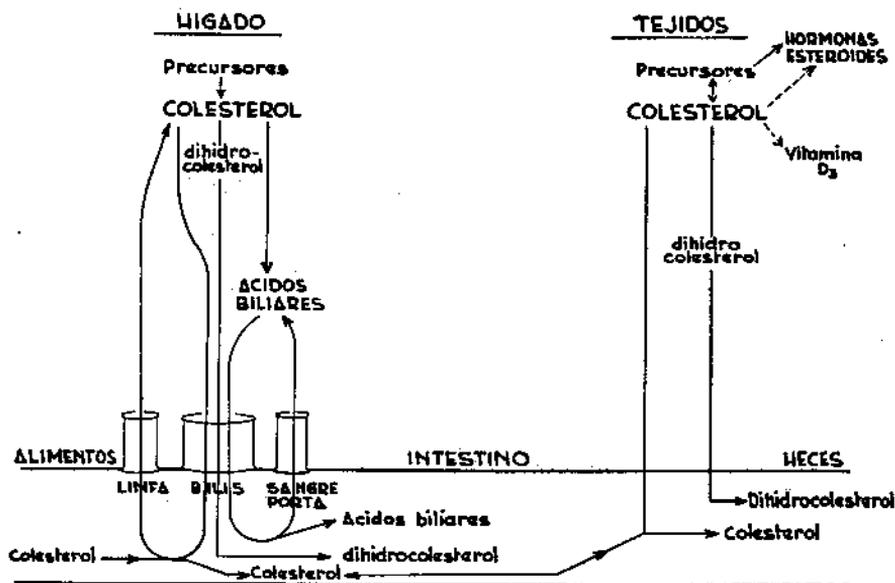


FIG. 2

En lo que se refiere a los esteroides vegetales éstos se absorben en el intestino; aun cuando, al parecer, mucho menos que el colesterol.²⁶ También, al incluir en la dieta betasitosterol el nivel de colesterol se reduce en un 5 a 15 por ciento; pero como los métodos ordinarios para medir colesterol no determinan esteroides de la soya, es posible que éstos aumenten en el plasma y de hecho contribuyan a acentuar la aterogénesis más bien que a disminuirla y a pesar de la reducción aparente en las cifras del colesterol. Esta posible absorción intestinal de los fitosteroides no es aceptada por la generalidad de los investigadores, algunos de los cuales han aplicado técnicas para su cuantificación directa; sin embargo, se tiene el hecho no confirmado de haber encontrado esteroides de la soya en lesiones ateromatosas de la aorta.²⁶ Por otra parte, falta comprobar la reducción poco marcada de colesterol, observada por ejemplo durante la inclusión en la dieta de sitosterol, efectivamente contribuya a hacer más lentos los procesos de aterogénesis. A este respecto, ya se ha señalado por varios autores la posibilidad de la existencia de un factor específico en las grasas vegetales que determine la baja del colesterol en el plasma y otro en la grasa animal que obre en sentido opuesto; pero aún no hay hechos suficientes que fundamenten esta idea.

Tanto el colesterol de los alimentos como el sintetizado en los tejidos los transforma el organismo en los llamados esteroides neutros y esteroides ácidos (ácidos biliares).⁴⁶ Además puede oxidar hasta bióxido de carbono y agua a la cadena lateral, pero no así a la parte cíclica de la estructura de la molécula.⁴³

En el hígado y en otros tejidos extrahepáticos el colesterol se degrada a esteroides neutros cuyo tipo principal es el dihidrocolesterol.

El hígado en forma exclusiva sintetiza los ácidos biliares a partir del colesterol.

Las hormonas corticoadrenales, la progesterona y la testosterona se derivan de un precursor común que a su vez lo es del colesterol. El colesterol, al parecer, no forma directamente estas hormonas, pero sí determina la tasa de su síntesis al estar equilibrado reversiblemente con dicho precursor. Otros datos experimentales sugieren que es el colesterol el precursor directo de los esteroides hormonales antes mencionados.⁴⁴

El colesterol y el dihidrocolesterol se eliminan principalmente por la bilis y secundariamente por la mucosa intestinal, particularmente a nivel del intestino grueso, por la orina y por la piel.

Una parte del colesterol excretado al intestino, especialmente el que forma parte de la bilis y el que proviene de los alimentos, es reabsorbido en la parte alta del intestino y regresa al torrente circulatorio por los con-

ductos linfáticos. Otra parte del colesterol, especialmente el eliminado con las secreciones intestinales a nivel del intestino grueso,⁴⁵ el de los alimentos y el dihidrocolesterol, no se reabsorbe y aparece en las materias fecales.

El organismo humano se desembaraza de su colesterol sobre todo formando los ácidos biliares,⁴⁶ los cuales se excretan por la bilis conjugados con glicina y taurina. La mayor parte de ellos se reabsorben en el conducto intestinal y llegan nuevamente al hígado por la circulación porta hepática.

Recientemente se ha usado la dosificación en el suero de los ácidos biliares como criterio para juzgar del proceso de aterosclerosis.^{47, 48}

LOS LÍPIDOS EN EL PLASMA SANGUÍNEO (LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS)

Los glicéridos, los fosfolípidos, los ésteres del colesterol, el colesterol no esterificado, los ácidos grasos no esterificados y las pequeñas cantidades de glicolípidos y de hormonas y vitaminas lipídicas, son transportadas en el plasma unidas casi en su totalidad a proteínas, constituyendo estos complejos las lipoproteínas plasmáticas.

Si se considera que las proteínas totales en el plasma humano normal están a la concentración de 7 gramos por cada 100 mililitros, el 12 al 15 por ciento de ellas o sea alrededor de 1 gramo por 100 ml. son lipoproteínas.⁵⁰

Las lipoproteínas comparadas con el resto de las proteínas plasmáticas son menos densas; esta menor densidad se debe a la presencia de los lípidos conjugados. Las lipoproteínas, a su vez, se diferencian entre sí por su relación lípidos proteínas, entre mayor es esta relación menor es su densidad.

El análisis físicoquímico de las lipoproteínas plasmáticas suministra datos interesantes y aún no completamente interpretados en relación con el metabolismo de los lípidos.

Para la cuantificación y la separación de las lipoproteínas el suero se diluye en soluciones salinas de densidades convenientes y se centrifuga a altas velocidades.^{53, 54, 59} Las lipoproteínas, a diferencia de las otras proteínas presentes en el suero, emigran hacia la superficie en vez de dirigirse al fondo de la celda en que se les centrifuga. La ultracentrífuga analítica permite obtener fotografías, a los intervalos deseados, de las zonas de brusca transición en la concentración de las proteínas que se están centrifugando. Con las siluetas fotográficas de estas zonas se puede determinar el tipo de lipoproteína, su homogeneidad y su concentración. Para analizar su composición química y para establecer sus características electrofo-

réticas se pueden obtener cantidades suficientes de cada grupo de lipoproteínas con la ultracentrífuga preparadora 69 o por extracciones y precipitaciones con solventes adecuados en sistemas con múltiples variables.^{54, 55}

La velocidad de migración de las proteínas en la ultracentrífuga se expresa como el espacio que recorren las zonas de transición en un segundo y bajo la influencia de la fuerza de una dina por gramo. Para las lipoproteínas se ha adoptado la unidad Svedberg de flotación o unidad Sf. Una unidad Sf significa que en un segundo la fuerza de una dina por gramo determina un desplazamiento hacia el centro de rotación de 1 por 10^{13} centímetros, hecha la medición entre 25 y 27 grados de temperatura y con las proteínas suspendidas en la solución de cloruro de sodio de peso específico igual a 1.063. En otras palabras, a mayor desplazamiento de una lipoproteína hacia la superficie su valor Sf es mayor y su contenido de grasas en relación con el de proteínas es mayor. A más de la densidad los valores Sf dependen de la forma y del tamaño de la molécula lipoprotéica.

En la actualidad y en vista de que no se han logrado separar lipoproteínas rigurosamente homogéneas, se acostumbra agruparlas en familias de acuerdo con sus velocidades de migración en las condiciones descritas. Los límites para agrupar los componentes de estas familias varían según el criterio del investigador. Gofman y sus colaboradores⁵⁶ en California han adoptado los siguientes grupos: lipoproteínas que casi no emigran, con valores Sf de 0 a 12; lipoproteínas de movilización media con Sf de 12 a 20 y lipoproteínas de desplazamiento mayor con Sf desde 20 a 100.

Oncley⁵⁰ en Harvard, entre otros, ha agrupado las lipoproteínas en cuatro familias con valores Sf de 1, de 2, de 2 a 10 y 10 a 400. El hecho muy interesante en estos últimos grupos es que la composición química de cada uno de ellos es más o menos constante, es decir, puede variar su cantidad en condiciones diversas, pero su composición química se mantiene.

La tabla I que muestra las características y composiciones químicas de estos grupos de lipoproteínas se ha integrado con los estudios de varios centros de investigación,⁵⁰ con la feliz y estimulante circunstancia de que los valores determinados por los diversos laboratorios no muestran diferencias significativas.

Las densidades de los grupos de lipoproteínas plasmáticas aquí analizadas variaron desde 0.94 para los quilomicrones y 0.98 para las lipoproteínas Sf 10-400, hasta 1.14 para las del grupo Sf 2.

La movilidad determinada por electroforesis permitió reconocer que las lipoproteínas están asociadas a las globulinas alfa₁ y beta₁. Sin embargo, desde hace varios años se demostró que los ácidos grasos no esterificados forman complejos disociables con la albúmina del suero, con la circuns-

TABLA I

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y COMPOSICIÓN DE LAS LIPOPROTEÍNAS DEL PLASMA

Densidad a 25°	Valores Sf	Movilidad electrofo- rética	Concentración mg/100 ml.	COMPOSICIÓN POR CIENTO				
				Proteínas	Fosfolí- pidos	Cholesterol alcohol éster	Trigli- céridos	
0.94	quilomi- cronos	variable	variable	2	7	2	6	83
0.98	10-400	β_1	150	9	18	7	15	50
1.03	2-10	β_1	320	21	22	8	38	10
1.09	-1	α_1	80	33	29	7	23	8
1.14	-2	α_1	380	57	21	3	14	5

tancia de que los de cadena más larga se combinan más fácilmente que los de bajo número de carbonos.⁵⁹

Las lipoproteínas que se hallaron más abundantes en el plasma, expresada su concentración en mg. por 100 ml., fueron las de los grupos Sf 2 y Sf 2-10; las del grupo Sf 10-400 y las Sf 1 representan la mitad y la cuarta parte respectivamente del grupo Sf 2-10.

La cantidad porcentual de proteína aumenta a medida que es mayor la densidad del grupo.

El análisis de los aminoácidos que componen la parte protéica ha mostrado que las lipoproteínas beta de la familia Sf 2-10 y las de la Sf 10-400 tienen una composición idéntica, expresada como el número de molas por gramo de péptido, a pesar de diferir en su densidad, en su velocidad de flotación y en su composición química total. La misma identidad interesante se observa entre las lipoproteínas alfa Sf 1 y las Sf 2, también a pesar de sus diferencias en otras de sus propiedades y en acuerdo con su conducta electroforética semejante. Juzgando en general, la composición del grupo peptídico de las lipoproteínas no es muy diferente de la de las otras proteínas del plasma, particularmente de la albúmina, de las globulinas alfa y del fibrinógeno; sin embargo, destaca su relativamente alta concentración de leucina y de fenilalanina, los cuales deben ser los responsables de la atracción y fijación que ejercen estos polipéptidos sobre los residuos alifáticos de los lípidos.

El contenido porcentual de fosfolípidos y de colesterol no esterificado

es muy parecido en los cuatro grupos de lipoproteínas analizadas, pero los ésteres del colesterol, que representan del 60 al 80 por ciento del colesterol total, abundan más en el grupo Sf 2-10 y le siguen en orden decreciente el Sf 1, el Sf 10.4000 y finalmente el Sf 2.

Por lo que toca a su contenido porcentual de grasas neutras éstas aumentan a medida que disminuye la densidad del complejo.

Gofman y su grupo desde 1950 postulan que los niveles de las lipoproteínas con mayor contenido de colesterol esterificado, esto es, una fracción específica de ellas, aumentan en los casos de aterosclerosis y que hay una relación de causa a efecto en el desarrollo de esta degeneración vascular.⁵⁶⁻⁶⁰ En sus trabajos iniciales encontraron que el grupo de moléculas, designado como lipoproteínas Sf 12-20, estaba asociado con aterosclerosis independientemente, en algunos casos, de si el colesterol total plasmático estaba elevado o no; observaron además una disminución en esta fracción cuando los enfermos se sujetaban a dietas pobres en colesterol y en grasas. El mismo grupo estableció el llamado Índice aterogénico que involucra concentraciones de lipoproteínas de los grupos Sf 0-12 y Sf 12-400 57, 58.

Los resultados de la primera gran prueba de esta hipótesis se publicaron en 1956-57. En dicho estudio se analizaron los sueros de 15,000 personas y el trabajo lo desarrollaron cuatro diferentes laboratorios en un período de tres años. En el grupo estudiado hubo alrededor de 5,000 hombres entre 40 y 59 años de edad que se consideraron normales clínicamente; pero de ellos 82 desarrollaron signos de enfermedad coronaria en el curso de este estudio. Las conclusiones de los centros componentes del grupo de investigadores no son concordantes. Unos concluyen que la medida en el suero de varios componentes lipídicos, muy particularmente de las lipoproteínas Sf 12-20, y el índice aterogénico permitieron predecir el ataque de las coronarias. Otros sostienen que si bien la aterosclerosis, con manifestaciones en las coronarias, estuvo asociada a la elevación previa de colesterol y de lipoproteínas Sf 12-20 (y posiblemente de las Sf 20-100), estas elevaciones no fueron útiles en clínica para predecir los nuevos casos. El hecho de haberse realizado este trabajo en un grupo tan heterogéneo de personas puede explicar las divergencias en la interpretación.

Es de esperar que el mejor conocimiento de la significación metabólica de los distintos grupos de lipoproteínas permita interpretar, en un futuro próximo, los resultados analíticos y lo que es más importante, contribuya a aclarar en qué consisten los trastornos metabólicos determinantes de la aterosclerosis.

Conviene mencionar que además de los niveles en suero de colesterol

total^{57, 61, 62} del índice colesterol/fósforo de fosfolípidos, de la dosificación de ácidos biliares^{47, 48} de los lípidos totales,⁶¹ del análisis por ultracentrifugación de los distintos grupos de lipoproteínas^{56, 57, 62} y del uso del índice aterogenético,⁵⁷ se están usando en los estudios de los ácidos grasos no esterificados^{63, 64} y de los ácidos poliénoicos^{65, 66} así como el estudio correlativo electroforético y por ultracentrifugación de las lipoproteínas y el análisis de su composición química,^{67, 68} particularmente la determinación de los lípidos totales, del colesterol total y de los fosfolípidos en las fracciones alfa y beta separadas por electroforesis en papel.^{61, 67, 69}

REFERENCIAS

1. *Block, K., Borek, E., y Rittenberg, D.*: Synthesis of cholesterol in surviving liver. *J. Biol. Chem.*, *162*, 441, 1946.
2. *Brady, R. O., y Guring, S.*: The biosynthesis of radioactive fatty acids and cholesterol. *J. Biol. Chem.*, *186*, 461, 1950.
3. *Bernhard, K., y Schoenheimer, R.*: The rate of formation of stearic and palmitic acids in normal mice. *J. Biol. Chem.*, *133*, 713, 1940.
4. *Rittenberg, D., y Schoenheimer, R.*: Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism. *J. Biol. Chem.*, *121*, 235, 1937.
5. *Bernhard, K., y Schoenheimer, R.*: The inertia of highly unsaturated fatty acids in the animal, investigated with deuterium. *J. Biol. Chem.*, *133*, 707, 1940.
6. *Stetten, DeW., Jr., y Schoenheimer, R.*: The conversion of palmitic acid into stearic and palmitoleic acids in rats. *J. Biol. Chem.*, *133*, 329, 1940.
7. *Steinberg, G., Slaton, W. H., Jr., Howton, D. R., y Mead, J. F.*: Metabolism of essential fatty acids. IV. Incorporation of linoleate into arachidonic acid. *J. Biol. Chem.*, *220*, 257, 1956.
8. *Tulpule, P. G., y Williams, J. N., Jr.*: Study of the role of essential fatty acids in liver metabolism. *J. Biol. Chem.*, *217*, 229, 1955.
9. *Gluscock, R. F., y Reinius, L. R.*: Studies on the origin of milk fat. 1.—The location of tritium in stearic acid produced by the catalytic addition of tritium to elaidic acid. *Biochem. J.*, *62*, 529, 1956.
10. *Hanahan, D. J., y Blomstrand, R.*: Observations on the incorporation in vivo of palmitic acid- 1-C^{14} and oleic acid- C^{14} into lecithins. *J. Biol. Chem.*, *222*, 677, 1956.
11. *Green, D. E., y Mü, S.*: Fatty acid oxidation with soluble enzymes from animal tissues. *Federation Proc.*, *12*, 211, 1953.
12. *Lipmann, F.*, en *The Mechanism of Enzyme Action*, editado por W. D. Mc Elroy y B. Glass, pág. 599. The Johns Hopkins Press, Baltimore, 1954.
13. *Green, D. E., Goldman, D. S., Mü, S., y Beinert, H.*: The acetoacetate activation and cleavage enzyme system. *J. Biol. Chem.*, *202*, 137, 1953.
14. *Harrison, H. C., y Long, C. N. H.*: The distribution of ketone bodies in tissues. *J. Biol. Chem.*, *133*, 209, 1940.
15. *Fishler, M. C., Entenman, C., Montgomery, M. L., y Chaikoff, I. L.*: The formation of phospholipid by the hepatectomized dog as measured with radioactive phosphorus. I. The site of formation of plasma phospholipids. *J. Biol. Chem.*, *150*, 47, 1943.
16. *Felts, J. M., Chaikoff, I. L., y Osborn, M. J.*: Insulin and the fate of lactate in the diabetic liver. *J. Biol. Chem.*, *191*, 683, 1951.
17. *Hotta, S., y Chaikoff, I. L.*: Cholesterol synthesis from acetate in the diabetic liver. *J. Biol. Chem.*, *198*, 895, 1952.
18. *Peifer, J. J., y Holman, R. T.*: Essential fatty acids, diabetes and cholesterol. *Arch. Biochem. and Biophys.*, *57*, 520, 1955.
19. *Gurin, S.*: The Biosynthesis of cholesterol, in *Chemistry of Lipides as Related*

- to Atherosclerosis, editado por I. H. Page, pág. 310, Charles C. Thomas. Pub. Springfield, Ill., 1958.
20. Bloch, K., y Rittenberg, D.: On the utilization of acetic acid for cholesterol formation. *J. Biol. Chem.*, **145**, 625, 1942.
 21. Wüersch, J., Huang, R. L., y Bloch, K.: The origin of the Isooctyl side chain of cholesterol. *J. Biol. Chem.*, **195**, 439, 1952.
 22. Curran, G. L.: Utilization of acetoacetic acid in cholesterol synthesis by surviving rat liver. *J. Biol. Chem.*, **191**, 775, 1951.
 23. Zabin, I., y Bloch, K.: Studies on the utilization of inovaleric acid in cholesterol synthesis. *J. Biol. Chem.*, **192**, 267, 1951.
 24. Tavormina, P. A., y Gibbs, M. H.: The metabolism of beta-delta-dihydroxy-beta-methylvaleric acid by liver homonates. *J. Am. Chem. Sec.*, **78**, 6210, 1956.
 25. Gould, R. G., y Taylor, B.: Effect of dietary cholesterol on hepatic cholesterol synthesis. *Federation Proc.*, **9**, 179, 1950.
 26. Page, I. H.: The chemistry of lipides and atherosclerosis, in *Chemistry of Lipides as Related to Atherosclerosis*, editado por I. H. Page, pág. 3, Charles C. Thomas, pub., Springfield, Ill., 1958.
 27. Peters, J. P., y Man, E. B.: The interrelations of serum lipids in normal persons. *J. Clin. Invest.*, **22**, 707, 1943.
 28. Sperry, W. M.: The relationship between total and free cholesterol in human blood serum. *J. Biol. Chem.*, **114**, 125, 1936.
 29. Shapiro, S. L., y Freedman, L.: Effect of essential unsaturated fatty acids and methionine on hypercholesteremia. *Am. J. Physiol.*, **181**, 441, 1955.
 30. Aftergood, L., Alfin-Slater, R. B., Deuel, H. J.: Comparative effect of cottonseed oil and lard on cholesterol metabolism in rat. *Federation Proc.*, **15**, 541, 1956.
 31. Portman, O. W., Hegsted, D. M., Stare, F. J., Bruno, D., Murphy, R., y Sinisterra, L.: Effect of the level and type of dietary fat on the metabolism of cholesterol and beta lipoproteins in the cebus monkey. *J. Exptl. Med.*, **104**, 817, 1956.
 32. Fillios, L. C., Andrus, S. B., Mann, G. V., y Stare, F. J.: Experimental production of gross atherosclerosis in the rat. *J. Exptl. Med.*, **104**, 539, 1956.
 33. Moyer, A. W., Kritchevsky, D., Logan, J. B., y Cox, H. R.: Dietary protein an serum cholesterol in rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, **92**, 736, 1956.
 34. Okey, R., y Lyman, M. M.: Protein intake and liver cholesterol: Effects of age and growth of the test animal. *J. Nutrition*, **58**, 471, 1956.
 35. Portman, O. W., Lawry, E. Y., y Bruno, D.: Effect of dietary carbohydrate on experimentally induced hypercholesteremia and hyperbetalipoproteinemia in rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol., and Med.*, **91**, 321, 1956.
 36. Chaikoff, I. L., Bloom, B., Siperstein, M. D., Kiyasu, J. Y., Reinhardt, W. O., Dauben, W. G., y Eastham, J. F.: C^{14} Cholesterol. I.—Lymphatic transport of absorbed cholesterol $-4-C^{14}$. *J. Biol. Chem.*, **194**, 407, 1952.
 37. Duncan, C. H., y Best, M. M.: Comparative effects of free and esterified sitosterol on serum and liver cholesterol in rats. *J. Clin. Invest.*, **35**, 700, 1956.
 38. Swell, L., Boiter, T. A., Field, H., Jr. y Treadwell, C. R.: Pantothenate and dietary cholesterol in the maintenance of blood and tissue cholesterol esters. *J. Nutrition*, **57**, 121, 1955.
 39. Mueller, J. H.: The mechanism of cholesterol absorption. *J. Biol. Chem.*, **27**, 463, 1916.
 40. Daskalakis, E. G., y Chaikoff, I. L.: The significance of esterification in the absorption of cholesterol from the intestine. *Arch. Biochem and Biophys.*, **58**, 373, 1955.
 41. Swell, L., Dailey, R. E., Field, H., Jr., y Treadwell, C. R.: Concerning the identity of pancreatic cholesterol esterase. *Arch. Biochem and Biophys.*, **59**, 393, 1955.
 42. Pihl, A.: On the mode action of fatty acids in cholesterol absorption. *Acta Physiol. Scand.*, **34**, 197, 1955.
 43. Chaikoff, I. L., Siperstein, M. D., Dauben, W. G., Bradlow, H. L., Eastham, J. F., Tomkins, G. M., Meier, J. R., Chen, R. W., Hotta, S. y Srere, P. A.:

- C^{14} Cholesterol. II.—Oxidation of carbons C4 and 26 to carbon dioxide by the intact rat. *J. Biol. Chem.*, 194, 413, 1952.
44. Bloch, K.: The biological conversion of cholesterol to pregnanediol. *J. Biol. Chem.*, 157, 661, 1945.
 45. Sperry, W. M.: Lipid Excretion. VII.—The partition of fecal lipids in bile fistula dogs. *J. Biol. Chem.*, 85, 455, 1929-30.
 46. Bloch, K., Berg, B. N., y Rittenberg, D.: The biological conversion of cholesterol to cholic acid. *J. Biol. Chem.*, 149, 511, 1943.
 47. Carey, J. B., Jr.: The serum dihydroxy-trihydroxy bile acid ratio in liver and biliary tract disease. *J. Clin. Invest.*, 35, 695, 1956.
 48. Wysochy, A. P., Portman, O. W., y Mann, G. G.: Bile acids in blood: Methods and their application to studies of experimental atherosclerosis in monkeys. *Arch. Biochem.*, and *Biophys.*, 59, 213, 1955.
 49. Sperry, W. M.: The concentration of total cholesterol in the blood serum. *J. Biol. Chem.*, 117, 391, 1937.
 50. Oncley, J. L.: Plasma lipoproteins, in *Chemistry of Lipides as Related to Atherosclerosis*, editado por I. H. Page, pág. 114., Charles C. Thomas, Pub., Springfield, Ill., 1958.
 51. De Lalla, O. F., y Gofman, J. W.: Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins, in *Methods of Biochemical Analysis*, editado por D. Glick, pág. 459, Interscience, New York, 1954.
 52. Man, E. B., y Gildea, R. F.: Variations in lipemia of normal subjects. *J. Biol. Chem.*, 119, 769, 1937.
 53. Bragdon, J. H., Havel, R. J., y Boyle, E.: Human serum lipoproteins. I.—Chemical composition of four fractions. *J. Lab. and Clin. Med.*, 48, 36, 1956.
 54. Cohn, E. J., Strong, L. E., Hughes, W. L., Jr., Mulford, D. L., Ashworth, J. M., Melin, M., y Taylor, H. L.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A System for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 459, 1946.
 55. Oncley, J. L., Melin, M., Richert, D. A., Cameron, J. W., y Gross, P. M., Jr.: The separations of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen and beta-1-lipoprotein into subfractions of human plasma. *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 541, 1949.
 56. Gofman, J. W., Lindgren, F., Elliot, H., Mantz, W., Hewitt, J., Strisower, B., Herring, V., y Lyon, T. P.: The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science*, III, 166, 1950.
 57. Report of a cooperative study of lipoproteins and atherosclerosis: Evaluation of serum lipoprotein and cholesterol measurements as predictors of clinical complications of atherosclerosis. *Circulation*, 14, 691, 1956.
 58. Gofman, J. W., Glazier, F., Tamplin, A., Strisower, B., y De Lalla, O.: Lipoproteins, coronary heart disease, and atherosclerosis. *Physiol. Rev.*, 34, 589, 1954.
 59. Boyer, P. D., Ballou, G. A., y Luck, J. M.: The combination of fatty acids and related compounds with serum albumin. III—The nature and extent of the combination. *J. Biol. Chem.*, 167, 407, 1947.
 60. Bragdon, J. H., y Michelsen, O.: Experimental atherosclerosis in the rat. *Am. J. Pathol.*, 31, 965, 1955.
 61. Bronte-Stewart, B., Keys, A., y Brock, J. F.: Serum cholesterol, diet, and coronary heart disease. An Inter-racial survey in the cape peninsula. *Lancet*, II, 1103, 1955.
 62. Mann, G. V., Muñoz, J. A., Scrimshaw, N. S.: The serum lipoprotein and cholesterol concentrations of central and north americans with different dietary habits. *Am. J. Med.*, 19, 25, 1955.
 63. Dole, V. P.: A relations between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. *J. Clin. Invest.*, 35, 150, 1956.
 64. Gordon, R. S., Jr., y Cherkes, A.: Unesterified fatty acid in human blood plasma. *J. Clin. Invest.*, 35, 206, 1956.
 65. Hammond, E. C., y Lundberg, W. O.: The effect of low fat diet and atherosclerosis on the polyunsaturated fatty acids of human blood plasma. *Arch. Biochem.*, and *Biophys.*, 57, 517, 1955.

66. *Evans, J. D., Waldron, J. M. Oleksyshyn, N. L., y Riemen Schneider, R. W.*: Polyunsaturated fatty acids in normal human blood. *J. Biol. Chem.*, *218*, 255, 1956.
67. *Kunkel, H. G., y Trautman, R.*: The alfa-2 lipoproteins of human serum. Correlation of ultracentrifugal and electrophoretic properties. *J. Clin. Invest.*, *35*, 641, 1956.
68. *Brown, F. R., Jr., Michaels, G. D., y Kinsell, J. W.*: Quantitative lipoprotein studies in normal and abnormal subjects using combined electrophoretic and chemical techniques. *Proc. Soc. Exptl. Biol., and Med.*, *92*, 587, 1956.
69. *Hillyard, L. A., Entenman, C., Feinberg, H., y Chaikoff, I. L.*: Lipide and protein composition of four fractions accounting for total serum lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, *214*, 79, 1955.