

✓ Colesterinemia y dosificación de la Colesterina

J. BARBA

I

LOS LIPOIDES.—LA COLESTERINA: PAPEL QUE DESEMPEÑA EN EL ORGANISMO

Los interesantes estudios de Overton, sobre la permeabilidad celular, representan una de las adquisiciones del más alto interés que la biología celular ha hecho en estos últimos años. Desde entonces, quedó establecida la siguiente ley: "*la permeabilidad celular para ciertos cuerpos, está ligada a la solubilidad de estos cuerpos, en los lipoides de la membrana celular*". Los lipoides protoplásmicos, constituyentes de la célula, son pues los que parecen desempeñar un papel preponderante en la permeabilidad celular.

La palabra *lipoides*, fue creada por Overton, a propósito de una teoría sobre el mecanismo de la permeabilidad de la membrana de envoltura de la célula. Desde el punto de vista químico los lipoides forman una familia del todo heterogénea. Sólo las lecitinas presentan con las grasas, una analogía de estructura que podría justificar, la denominación de lipoides, al considerarlos como cuerpos químicos.

Overton teniendo en cuenta sólo los fenómenos de orden físico, llama *lipoides* a los cuerpos que, de una manera general, son disolventes para un mismo conjunto de cuerpos (por ejemplo los anestésicos) y que actúan respecto de la solubilidad, más o menos como las grasas.

Los lipoides por su ubicuidad en los organismos vivos tienen gran importancia biológica; porque las lecitinas y colessterinas son, sin duda, los constituyentes primarios de la célula.

La lecitina y la colessterina, y, de una manera general, los lipoides existen seguramente en la membrana de envoltura de las células y desempeñan allí un papel considerable por sus propiedades físicas especiales.

Probablemente la acción de las sales sobre las células tienen como punto de ataque los coloides lipóidicos de esa membrana, y también la acción de ciertos agentes hemolíticos ha sido igualmente explicada por su solubilidad en los lipoides celulares (lecitina en esos agentes). Así mismo, la permeabilidad de la célula para los narcóticos parece ser función de la solubilidad de estos agentes en los lipoides de la membrana celular. Se ha notado que ciertos cuerpos insolubles en un medio se vuelven solubles en presencia de los lipoides. Así, por ejemplo, los venenos de las serpientes, del escorpión y de la abeja son solubles en el cloroformo cuando éste encierra algo de lecitina.

Es interesante anotar aquí lo que se ha denominado la *hidrofilia* de la colessterina. Los éteres puros de la colessterina, la lanolina, por ejemplo, desembarazada de la colessterina libre que ella contiene, casi no poseen la propiedad llamada *hidrofilia*, es decir que no se consigue incorporar a ella cantidades apreciables de agua. Si por el contrario, se añade a la parafina de 2 a 5% de colessterina, o mejor aún de oxicolessterina, se confiere a estas mezclas una hidrofilia tal que se pueden incorporar 200 y aún hasta 550 partes de agua. Estos hechos que parecen no haber preocupado sino a los dermatólogos para la preparación de ungüentos, presentan un interés biológico evidente, en lo que se refiere a la penetración del agua y, por consiguiente a las sustancias solubles en el agua, en un medio como la grasa.

En lo que concierne a la intervención de los lipoides con sus propiedades químicas se han encontrado hechos no menos importantes. El organismo se sirve de la colessterina para protegerse contra ciertos agentes tóxicos, especialmente contra los hemolíticos, porque la colessterina parece fijarlos químicamente y volverlos inofensivos. Esta protección de la colessterina se ejerce también contra las toxinas bacterianas. La toxina tetánica es neutralizada por la bilis y, en esta acción, la colessterina biliar juega un papel eminente.

CLASIFICACIÓN. los lipoides se pueden clasificar en lipoides fosforados y lipoides no-fosforados.

A la primera clase pertenecen las *lecitinas*, las mejor conocidas entre los lipoides fosforados.

A la segunda corresponden la *colessterina* y los *lipoides glicosídicos*, como la *cerebrina*, o mejor dicho los *cerebrosidos*.

Antes de tratar de la existencia de la colēsterina en la sangre, tema del presente artículo, creemos útil, recordar ligeramente las propiedades de este lipóide.

Colesterina.— $C^{27}H^{51}O$. Acompaña en general a la lecitina, se la encuentra en casi todos los líquidos y tejidos del organismo, es particularmente abundante en el cerebro y, sobre todo, en la sustancia blanca, en la yema de huevo, en el esperma, en los linfocitos del timo, en la *bilis*, etc. La colessterina existe también en el producto de las glándulas sebáceas, y de una manera general forma parte, sea al estado libre, sea bajo la forma de éteres, del barniz que recubre el cuerpo de los mamíferos (1), de los pájaros, etc., y al servir de capa protectora, es superior a las grasas a base de glicerina. Algunas variedades de colessterina están muy repartidas en los tejidos vegetales y en los organismos inferiores. En fin, la colessterina se halla en numerosas producciones patológicas (*cálculos biliares*, pus, dilataciones ateromatosas, tubérculos, líquidos quísticos, esputos, etc.)

La colessterina pertenece en realidad al grupo químico de las *Sterinas*, llamado así por Abderhalden. Es un alcohol no saturado, de peso molecular elevado que, en relación de los átomos de carbono a los átomos de hidrógeno se colocan muy cerca de los politerpenos. Es un alcohol monovalente insoluble en el agua, pero forma con este disolvente soluciones coloidales en la que es electro negativa y precipitable por las soluciones salinas. Se supone que no es de origen proteico, representa, probablemente un parentesco químico con el radical colálico y con los ácidos biliares.

La colessterina es un cuerpo blanco, inodoro, y cristalino, insoluble en los álcalis y los ácidos minerales diluidos; las soluciones acuosas de jabón y de sales biliares disuelven una pequeña cantidad. La colessterina cristaliza en el éter, en el cloroformo y en el éter de petróleo, en agujas finas brillantes y anhidras, y en el alcohol en tabletas con una molécula de agua de cristalización. Su solución en el ácido acético deja largas agujas que contienen una molécula de ácido. Las soluciones de colessterina dan con el anhídrido acético y el ácido sulfúrico concentrado *coloraciones características diferentes*.

(1) La lanolina extraída del humor oleoso que impregna la lana de los carneros, es una mezcla de éteres de la colessterina y de colessterina libre.

La coles-terina funde entre 145° y 148° y hierve a 360° , pero no se puede, sin descomponerla, destilarla bajo presión normal. Es levogira: $(\alpha)_D = -36^{\circ},61 + 0,249 p$. en solución clorofórmica. Su peso específico es 1.046.

Existencia de la coles-terina en la sangre.—Se sabe desde hace mucho tiempo, que la coles-terina se encuentra en la mayor parte del organismo, pero que es abundante, en particular en los centros nerviosos. En la sangre se encuentra en los glóbulos rojos y en el plasma. Muchos fisiólogos han admitido, con Flint, que la coles-terina de la sangre proviene de la desasimilación de los centros nerviosos y que constituye un desecho eliminado por el hígado, con la bilis. En realidad sabemos hoy día, que la coles-terina no es un simple producto de desasimilación, sino que entra en la constitución de casi todos los tejidos, desempeñando (como los otros lipoi-des) un papel antitóxico muy importante en la defensa orgánica contra las intoxicaciones. Se ignora todavía el origen de esa sustancia. Algunos fisiólogos creen que es elaborada a expensas de la grasa y otros a expensas de los albuminoideos. Es posible que provenga igualmente de la coles-terina contenida en los alimentos, de un modo directo.

Importantes y recientes investigaciones de Chauffard, Laroche y Grigaut, han dado a conocer que el tenor de coles-terina contenida en el suero sanguíneo es bastante fijo en estado normal, oscilando al rededor de 1 gr. 50 por litro, cantidad que varía mucho en numerosos estados patológicos. Estas variaciones traen consigo consecuencias notables.

En ciertos casos el tenor de la coles-terina disminuye y existe entonces la *hipocoles-terinemia*. El hecho ha sido observado, sobre todo en los tuberculosos, durante los brotes evolutivos febriles; parece corresponder a una disminución de la resistencia antitóxica del organismo.

En otros casos la cantidad de coles-terina aumenta: durante el embarazo, en el curso de la fiebre tifoidea, en un gran número de afecciones del hígado y de los riñones. Esta *hipercoles-terinemia* puede traer consigo la precipitación y el depósito de coles-terina en ciertos tejidos: en los párpados (xantelasma), en la córnea (arco senil), en la retina (retinitis grasosa de los diabéticos y de los brighticos). La hipercoles-terinemia puede también ser el origen del ateroma arterial (depósitos de coles-terina en la endoarteria).

Pero el depósito local de colessterina, el más antiguamente conocido, se encuentra en las vías biliares formando los cálculos colessterinicos. Las causas de su producción son muy discutidas: la mayor parte de autores se inclina a la teoría infecciosa y atribuye a la inflamación de las vías biliares la formación de los cálculos. Para otros se trata solamente de una precipitación de orden químico, causado por un trastorno de la nutrición general. Las investigaciones de Chauffard, Laroche y Grigaut, demuestran la existencia de la hipercolessterinemia en el embarazo y en el curso de la fiebre tifoidea, que precede, con frecuencia, a la litiasis biliar; permitiendo así concebir que estos dos mecanismos, bacteriológico y químico, se asocien.

En efecto, el tenor de la bilis en colessterina varía paralelamente al grado de colessterinemia; las vías biliares juegan, pues, en el mecanismo regulador de colessterina en la sangre, un papel muy importante.

Según los estudios de A. Chauffard, Guy Laroche y A. Grigaut parece que la hipergénesis colessterínica es de origen *endógeno*, porque existen muchos focos de formación en las glándulas endocrinas, en particular en las cápsulas suprarenales y en el cuerpo amarillo, especialmente en los estados gravídico y puerperal.



II.

ÁREA HISTÓRICA

DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

ENFERMEDADES QUE TIENEN UNA REPERCUSION DIRECTA SOBRE EL GRADO DE COLESTERINEMIA

Las enfermedades en las cuales la evolución se acompaña, necesariamente, de modificaciones en el grado de colessterinemia se relacionan con tres grupos principales: *las infecciones, el brijgtismo y los estados hepáticos*. En los dos primeros grupos, estas modificaciones tienen por punto de partida los órganos formadores de la colessterina; en el último, al contrario, están ligadas a una insuficiencia de la función secreto-excrementicia del hígado.

I°. *La Colessterinemia en las infecciones*

El tenor de colessterina sufre profundas variaciones en el curso de la infección. Al investigar y clasificar las

formas de la reacción colesterinémica en las diferentes enfermedades, llama la atención el polimorfismo que puede revestir la curva de la colessterina sanguínea en el curso de la misma infección. Dos factores parecen regir la curva reaccional colesterinémica e imprimirle caracteres especiales, a saber: la intensidad y la duración de la infección. Podemos así distinguir tres tipos principales de reacción correspondientes a las *infecciones ligeras*, a las *infecciones de mediana gravedad* y a las *infecciones graves*.

a) *En la infección ligera*, el grado de colesterinemia es poco o nada modificado.

b) *En la infección de mediana gravedad*, cuyo tipo es la neumonía, la curva colesterinémica se acentúa y reviste, por regla general, la forma reaccional completa: hipocolesterinemia muy acentuada en el período de estado, hipercolesterinemia en la defervescencia y en el período de convalecencia. En la fiebre tifoidea se ha visto que a la hipocolesterinemia del período febril e infeccioso sucede una hipercolesterinemia secundaria; las dos curvas, la de la temperatura y la de la colesterinemia evolucionan en sentido inverso y se entrecruzan en el momento de la defervescencia. Parece pues que la hipercolesterinemia marcha, por igual, con la inmunidad del tífico. Los sujetos sometidos a la inmunización de Vincent dan una convincente demostración; cada inyección de vacuna provoca una pequeña reacción, análoga a la reacción general de la fiebre tifoidea, disminución primero y aumento luego de colesterinemia; la ascensión secundaria es tanto mayor, cuanto más profunda es la caída inicial. Esta reacción hipercolesterinémica, muy marcada en las dos primeras inyecciones es más débil en la tercera, nula en la última, momento en el cual el organismo ha adquirido plena inmunización. La cantidad de colessterina circulante en la sangre del tífico, tiene desde el punto de vista hepático y biliar, una acción mas compleja de la que se había creído hasta hoy: además de la bacilo-colia que hoy sabemos es constante, ella modifica en sentido sucesivamente opuesto el tenor de la *colessterina sérica*. Por regla general, *el tífico convaleciente es un hipercolesterinémico*.

c) *En las infecciones muy graves o prolongadas*, la colesterinemia baja considerablemente, para volver en seguida a la normal, pero sin presentar su ascensión se-

cundaria. Tal cosa se observa en la misma fiebre tifoidea (perforación o recaída). En las infecciones prolongadas, de marcha subaguda, en la cual la muerte es la terminación fatal, se comprende que la curva colesterinémica quede constantemente bajo la normal; impotente el organismo para inmunizarse contra la infección, no puede ejercer sino insuficientes reacciones de defensa. Así, en un caso de endocarditis séptica la cantidad de colessterina en todo el tiempo de observación, treinta y un días, fué de 0 gr. 60 a 1 gr. 20.

Estos hechos ponen en evidencia el papel antitóxico de la colessterina. Se puede decir que la hipercolesterinemia acompaña a los grandes procesos de inmunización, y preside, de una manera no determinada todavía, la formación de los anticuerpos.

2°. *La colesterinemia en el Brightismo*

En la nefritis aguda no se observa, generalmente, un aumento de la colesterinemia, a pesar de que el análisis químico anote un cierto grado de retención nitrogenada y un aumento de la constante de Ambard.

Por el contrario, la hipercolesterinemia, es un fenómeno muy frecuente en el curso de la nefritis crónica y llega a cantidades considerables, pudiendo elevarse a 15 gramos. y más, por litro.

De la misma manera, la hipercolesterinemia es frecuente en los enfermos que presentan una *fuerte hipertensión* y en los cuales la albuminuria es poco marcada o falta totalmente. He ahí, un signo que permite relacionar el síndrome de hipertensión arterial a las otras formas del mal de Bright, descritas por M. Widal.

El profesor Chauffard ha demostrado la relación que existe, desde el punto de vista de la patogenia, entre el aumento de colessterina del suero durante la nefritis, y la retinitis brightica en placas grasosas en las cuales se conoce la naturaleza colesterínica. En gran parte, se debe a la colesterinemia la frecuencia considerable de esa lesión que es debida al depósito de colessterina que se encuentra en el fondo retiniano.

3°. *La colesterinemia en los hepáticos*

La hipercolesterinemia es nula en las *cirrosis del hígado*.

La ictericia hemolítica *congenital o adquirida* evoluciona igualmente sin aumento de la colescterinemia; este elemento hace contraposición a las ictericias de otra especie.

Por el contrario, se encuentra la hipercolesterinemia habitual en los estados que se acompañan de *trastornos de la secreción biliar*, y puede como en los brighticos, llegar a 15 gramos por litro.

De una manera general, existe cierta relación entre el grado de colescterinemia y la intensidad de la reacción de los otros elementos de la bilis. Por ejemplo en la *ictericia catarral, la hipercolesterinemia, la colalemia y la bilirrubinemia* siguen, por lo regular, una evolución paralela. Sin embargo, se ha observado una disociación entre la retención de la colescterina y la retención de otros elementos de la bilis: sales biliares y pigmentos biliares.

Esta disociación puede verse en ciertos estados litiásicos y xantelásmicos, en los cuales existe una hipercolesterinemia notable en ausencia de toda ictericia.

DOSIFICACION DE LA COLESTERINA

Existen dos métodos de dosificación de la colescterina en el suero y en los tejidos: el ponderal y el colorimétrico.

Expondremos la técnica recomendada por M. Chauffard, de extrema precisión, ya comprobada en otros países, y perfeccionada por A. Grigaut, Jefe del Laboratorio del hospital Saint Antoine, de Paris, de quien recibimos la enseñanza práctica del método que hoy damos, gustosos, a conocer a los estudiantes de medicina a quienes insinuamos dedicarse a esta clase de investigaciones en nuestro país.

PROCEDIMIENTO PONDERAL

TECNICA.—En un balón de 250 centímetros cúbicos se colocan 20 centímetros cúbicos de suero sanguíneo, 20 centímetros cúbicos de lejía de sosa a 36° Baumé (400 gramos de NaOH por litro), se lleva el todo al autoclave a 110°, durante una hora.

Pasado este tiempo se retira el líquido del auto-

clave y se introduce en una ampolla de decantación y se agita con 60 centímetros cúbicos de éter. Cuando los líquidos se han separado, se ~~reci~~ra la capa acuosa inferior, colocándola en el balón de 250 centímetros cúbicos y se procede a una segunda extracción, de la misma manera que la anterior.

Los líquidos etéreos evaporados en una cápsula de porcelana abandonan un residuo formado por la totalidad de la colessterina, acompañada de algunas impurezas. Para separar éstas, se disuelve el residuo en 50 centímetros cúbicos de alcohol de 95°, adicionados de 1 centímetro cúbico de sosa alcohólica al 1 por 100. Se evapora la mezcla al baño maría, se lleva a la estufa a 100° durante media hora, después se agota el residuo con el éter de petróleo y se vierte en la cápsula, todavía caliente.

Mediante el reposo, las impurezas se depositan y, el líquido etéreo limpido se filtra en amianto. Se lava cuidadosamente la cápsula y el embudo con el éter de petróleo y se abandonan las soluciones etéreas reunidas a la evaporación espontánea, en un cristizador pequeño, tarado.

La colessterina queda así separada en estado de pureza, bajo la forma de largas agujas blancas y sedosas. Se procede a pesarla, después de desecación del producto en la estufa a 100°, hasta obtener un peso constante.

Este método da la cantidad de colessterina total expresada en colessterina libre, sin tener en cuenta la que se encuentra al estado libre o de combinación inicial.

En el hombre sano, en las condiciones normales de alimentación, el tenor de colessterina está generalmente comprendido entre 1 gr. 40 y 1 gr. 90 por litro, y se puede considerar que 1 gr. 60 es la media normal, de la colessterinemia.

II.—PROCEDIMIENTO COLORIMÉTRICO

Soluciones y reactivos necesarios.—1°. Una solución clorofórmica de colessterina, exactamente titulada, conteniendo 0 grs. 06 de colessterina por 100. c. c.

2°. Alcohol a 60° conteniendo 1/200° de sosa.

3°. Alcohol a 70° conteniendo 1/100° de sosa.

4°. Eter sulfúrico del comercio.

5°. Cloroformo del comercio.

6°. *Anhidrido* acético purq.

7°. Acido sulfúrico a 66° Baumé.

TECNICA.—*Para el suero.*—Colocar en un colesterimetro 2 c. c. de suero, después 13 c. c. de alcohol de 60°, sodado. Mezclar y añadir 30 c. c. de éter. Tapar, mezclar de nuevo e invertir dos veces el aparato.

Dejar en reposo, retirar la capa acuosa inferior y reemplazarla por 20 c. c. de agua que se hace correr a lo largo de las paredes del aparato.

Se deja en reposo durante cinco minutos; se retira el agua y se procede a un segundo lavado, en las mismas condiciones.

Después de la separación completa de las aguas del lavado, el éter se vierte en una cápsula de porcelana de 60 c. c. Se añade algunos c. c. del éter que sirvió para lavar el aparato y se evapora al baño de maría.

Queda un residuo formado de gotitas grasosas que se vuelve a tratar por 5 c. c. de cloroformo. Se disuelve primero este residuo en 2 c. c. de cloroformo; se trasvasa en una probeta graduada de 10 c. c., después se lava cuidadosamente la cápsula con el resto del cloroformo empleado en las demás veces, y se añade al precedente.

Se practica entonces la reacción de *Liebermann*, mezclando a los 5 c. c. de la solución clorofórmica, 2 c. c. de anhídrido acético puro y III gotas *normales* de ácido sulfúrico y se deja en reposo media hora.

Al mismo tiempo, en otro tubo grande que sirve de tipo colorimétrico, se mezclan de la misma manera 5 c. c. de la solución clorofórmica de colessterina a 0 grs. 06 por 100, 2 c. c. de anhídrido acético y III gotas de ácido sulfúrico, contadas en el mismo cuenta gotas.

Al cabo de media hora la coloración verde de la reacción de *Liebermann* ha llegado en los dos tubos a su completo desarrollo.

Se procede inmediatamente al dosage colorimétrico.

Para practicarlo se puede verter, 5 c. c. de las soluciones coloreadas en los tubos de un colorimétrico de dilución hasta llegar a igualdad de tintes diluyendo, según los casos, uno u otro de los dos líquidos, con una mezcla en las proporciones precedentes, de cloroformo, anhídrido acético y ácido sulfúrico.

Sea por ejemplo N, el número de c. c. marcados por la solución diluida.

P, la cantidad de colessterina contenida en un litro de suero, la cual será dada por las relaciones siguientes:

1°. En el caso de dilución de la solución que se dosifica:

$$P = 0,30 + N \text{ gramos}$$

2°. En el caso de dilución del tipo:

$$P = \frac{7,50}{N} \text{ gramos}$$

Para los tejidos.— Colocar en un frasco de 90 c. c., 0 grs. 20 a 1 gramo de tejido según su tenor en coles-terina, 30 c. c. de alcohol a 70 grados, sodado y llevar el todo dentro de un baño de maría hirviente hasta que el tejido se disgregue y que el volumen de la mezcla quede reducido a 15 c. c.

Se introduce estos 15 c. c. en un coles-terímetro, se lava el frasco de 90 c. c. con 15 c. c. de éter que se tras-vasa en seguida al coles-terímetro y se continúa con las operaciones como anteriormente.

El peso P de coles-terina contenido en un kilogramo de tejido se obtendrá por las relaciones precedentes en las cuales se hará figurar el peso p variable según la canti-dad tomada para el ensayo.

1°. En el caso de dilución de la solución que se dosifica, se tendrá:

$$P = \frac{0,6n}{p} \text{ gramos}$$

2°. En el caso de dilución del tipo se tendrá:

$$P = \frac{15}{n p} \text{ gramos}$$

Este procedimiento, como el anterior, el ponderal, da la cantidad de la coles-terina total expresada en coles-terina libre, sin presumir si se encuentra al estado libre o de combinación inicial.

Estos métodos son muy sensibles y permiten do-sificar cantidades mínimas, de coles-terina, pudiendo ir hasta 1/100° de miligramo.

DR. F. J. BARBA.

Médico y Farmacéutico.