

Trabajos Originales

Presencia de Pre-Beta₁ en el Lipidograma Sobre Gel de Agarosa de Pacientes Coronarios

Dres. REGINA L. W. de WIKINSKI, ANA MARIA PAGLIONE, HAYDÉE K. de HALPERIN, MARIA ESTELA BANCHIK * y HECTOR E. MOSSO

RESUMEN

Se estudia la incidencia de prebeta₁ lipoproteína en 29 controles y en 138 enfermos coronarios examinados clínicamente y con tests ergométricos y cinecoronariográficos.

Para ello se utiliza la separación electroforética en gel de agarosa y poliacrilamida, caracterizando la banda pre-beta₁ LP por ultracentrifugación preparativa y posterior electroforesis de las fracciones obtenidas.

Realizado el test χ^2 se prueba la incidencia de pre-beta₁ LP en enfermos con aterosclerosis coronaria es significativamente mayor que en los controles, sean normo o hiperlipémicos ($p < 0.001$).

La presencia de pre-beta₁ LP puede considerarse como un nuevo factor de riesgo en aterosclerosis.

Dadas sus características genéticas, ante la presencia de un paciente portador de pre-beta₁ LP, debería indicarse un estudio familiar.

INTRODUCCIÓN

Diversos autores han descripto la aparición de más de una banda de lipoproteínas (LP) en la zona de las pre-beta LP. Noble (1) señala a presencia de hasta tres bandas en los electroforegramas sobre gel de agarosa: una lenta, una intermedia y otra rápida. Willie (2) describe un electroforegrama sobre papel de un paciente con triglicéridos (TG) normales y una aparente pre-beta LP de movilidad lenta. Trabajos posteriores aclararon las características físico-químicas de dicha banda, que Dahlen denominó pre-beta 1. Se trata de una LP de densidad entre 1.063 (3) por lo cual se la diferencia de la verdadera

LP cuya densidad es menor que 1.006, denominándose la pre-beta sumergible o sinking pre-beta, ya que se encuentra en el fondo del tubo cuando se ultracentrifuga el plasma durante 16 horas a 100.000 g.

En estudios realizados en paralelo utilizando gel de agarosa y gel de acrilamida como soportes electroforéticos, Mead y Dangerfield (4) encontraron que la banda subsidiaria localizada inmediatamente por encima de la beta LP parece ser pre-beta sumergible y la denominaron S1.

Dahlen y col. (5) asignan a esta fracción características genéticas, y Berg (6) señala que ellas derivan de la lipoproteína LP (a) que la distingue desde el punto de vista inmunológico.

Buscando una significación patológica con estos hallazgos, el grupo de Dahlen (7) encontró una alta incidencia de pre-beta₁ LP en los electroforegramas sobre sepraphor (acetato de celulosa) realizados en muestras de pacientes con afecciones cardiovasculares diagnosticadas clínicamente.

Sin embargo dichos estudios se realizaron en pacientes que no se hallaban en condiciones basales, ya que pocas horas antes habían almorzado.

En este trabajo nos proponemos verificar la incidencia de pre-beta₁ lipoproteína en pacientes controles desde el punto de vista cardiovascular y en enfermos coronarios, ambos grupos diagnosticados por métodos específicos tales como tests ergométricos

* Departamento de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, U.B.A., 6ta. Cátedra de Medicina, U.B.A. — Paraguay y Junín, Buenos Aires, Argentina.

y cineangiocoronariográficos, estudiándolos en condiciones basales.

Para ello utilizamos la separación electroforética en gel de agarosa y poliacrilamida caracterizando la banda pre-beta₁ LP por ultracentrifugación preparativa y posterior electroforesis de las fracciones obtenidas.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 167 pacientes; 156 hombres y 11 mujeres de edades comprendidas entre 13 y 69 años, divididos en los siguientes grupos:

Grupo A: compuesto por 138 pacientes (136 hombres y 2 mujeres) con antecedentes clínicos y electrocardiográfico de enfermedad coronaria, estudiados con test ergométrico y coronariografía.

Grupo B: de control, dividido en 2 subgrupos: **normolipémicos** compuesto por 14 pacientes, 10 hombres y 4 mujeres; **hiperlipémicos**, compuesto por 15 pacientes, 10 hombres y 5 mujeres.

Todos los controles fueron objeto de una exhaustiva revisión clínica y cardiológica y sus pruebas ergométricas fueron normales.

En el suero de todos los pacientes se determinó colesterol por el método de Huang Chen y colaboradores (8); triglicéridos por el método enzimático de Eggstein (9) y lípidos totales por el método de Chavrol y Charonnat (10).

Las lipoproteínas se separaron electroforéticamente sobre gel de agarosa coloreando con sudan black (11-12). Todos los electroforetogramas fueron cuantificados por densitometría y se destacó la presencia de una banda entre Beta LP y Prebeta LP.

En 39 pacientes también se realizó la electroforesis de lipoproteínas sobre dos geles superpuestos de poliacrilamida (13), anotándose la presencia de bandas subsidiarias inmediatamente por encima de la Beta LP.

La ubicación de la prebeta₁ con respecto a su densidad se verificó sometiendo el suero de pacientes que presentaban dicha banda, a la ultracentrifugación preparativa a 100.000 g y durante 16 horas en ultracentrífuga Spinco, habiendo superpuesto una solución salina 0,15 de densidad 1.006 sobre el suero.

El infranadante fue sometido a una electroforesis sobre agarosa y se compararon las bandas con las del suero total.

Para caracterizar la banda prebeta₁ desde

el punto de vista de su comportamiento frente a mezclas de polianiones y heparina, se realizó la electroforesis sobre agarosa al 1% y la placa ya corrida se sumergió en una solución Cl₂Mg 0.1 M que contenía heparina 1.5 g/1 y ClNa 10g/1. En este medio precipitan las lipoproteínas de densidad menor que 1.019 (14-15).

A dos voluntarios sanos que presentaban prebeta₂ en condiciones basales se les administró una comida de prueba standard de 1.200 calorías; conteniendo lípidos, hidratos de carbono y proteínas en proporción 40:40:20. A las 3, 6 y 9 horas de la ingesta se les extrajeron muestras de sangre en las que se dosaron triglicéridos, colesterol y lipoproteínas.

RESULTADOS Y DISCUSION

A Caracterización bioquímica de la prebeta₁.

1) Al comparar los electroforetogramas sobre agarosa del suero total y del infranadante obtenido ultracentrifugando a 100.000 g por 16 horas, se observó la presencia de una banda de lipoproteínas con movilidad entre beta LP y prebeta LP en el infranadante, mientras que la prebeta LP no aparecía.

En cambio, la electroforesis de la fracción superior, de densidad menor que 1.006, reveló la presencia de prebeta LP. Ello caracteriza a la pre-beta₁ como lipoproteína de densidad mayor que 1.006.

2) El tratamiento post electroforético con cloruro de magnesio-heparina no produjo precipitación en la zona correspondiente a la pre-beta₁, en cambio precipitó en la zona de las pre-beta verdaderas, revelando que se trata de una lipoproteína de densidad mayor que 1.019.

De ambos procedimientos se infiere que la pre-beta₁ que computamos, es una lipoproteína de densidad mayor que 1.019; ello está de acuerdo con las observaciones que Berg (6) y Morrisett (16) quienes informan que dicha lipoproteína es del tipo de las beta LP por la predominancia de apoproteína B; su alta movilidad electroforética con respecto a las beta LP se debería a su gran contenido en ácido siálico. Simons y col. (22) la encuentran en la fracción de ultra-

centrifugación de densidad entre 1.050 y 1.12; su contenido en lípidos es menor que el de la beta LP, pero mayor que el de la alfa LP. Su peso molecular se estima en 5.000.000.

En los dos voluntarios que se siguieron luego de una comida standard de 1.200 calorías se observó la persistencia de la pre-beta₁ que no se modificó mientras que la pre-beta de muy baja densidad se elevaba paralelamente a los triglicéridos, y el colesterol no se modificaba apreciablemente.

Dahlen considera que la detección postprandial de esta lipoproteína es más sensible, posiblemente porque así se induce la formación de la pre-beta verdadera, con lo cual se asegura la existencia de dos picos en la zona pre-beta y se identifica con más seguridad la pre-beta₁.

La comparación entre los hallazgos en gel de agarosa y poliacrilamida arrojó concordancia de resultados en 30 casos, mientras que en 5 se observó la banda correspondiente en poliacrilamida y no en agarosa, y en 4 casos se dio la situación inversa. Dado que la electroforesis en gel de agarosa es más sencilla, creemos que este método es adecuado para detectarla; y sólo emplearíamos la poliacrilamida cuando la presencia de una pre-beta muy elevada puede ocupar esa zona en el electroforegrama en agarosa y hacer no visible la pre-beta₁.

B Aspectos clínicos

En lo que respecta a los estudios de lípidos, debemos tener en cuenta dos aspectos importantes:

- 1) Los tipos de hiperlipemias hallados en los grupos coronarios y controles.
- 2) La presencia de pre-beta, y su correlación con aterosclerosis coronaria.

1) La tipificación de los pacientes hiperlipémicos se realizó teniendo en cuenta sus antecedentes clínicos, los niveles de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas.

Pudimos observar que tanto en los coronarios como en los controles había una distribución de tipos de hiperlipemia semejante

con predominio del tipo II_a y en segundo lugar del tipo IV.

No entramos a considerar la frecuencia de las hiperlipemias porque en el diseño del trabajo se contempló la necesidad de estudiar un grupo de sujetos controles hiperlipémicos, ya que interesaba verificar si había correlación entre la presencia de pre-beta₁ y la posible hiperlipemia del portador.

Sin embargo debemos hacer notar que 44 de los 95 pacientes coronarios realizaba un programa de entrenamiento físico que, de acuerdo a Bonanno y Lies (20), suele producir disminución de los triglicéridos plasmáticos.

2) La presencia de pre-beta₁ en los pacientes coronarios y controles se resume en la tabla correspondiente.

La selección de los pacientes para este trabajo se ha realizado teniendo presentes las dificultades inherentes a la calificación de "control" cuando se trata de aterosclerosis coronaria. Es por ello que se han realizado tests ergométricos y se han contemplado exhaustivamente todos los aspectos clínicos en los pacientes incluidos en el grupo "control".

Realizado el tests de χ^2 se comprobó que la incidencia de pre-beta₁ en enfermos con aterosclerosis coronaria es significativamente mayor que en los controles, sean normo o hiperlipémicos ($p < 0,001$). Para la segura detección de pre-beta₁ se deben tener en cuenta algunas situaciones especiales:

- a) La pre-beta₁ tiene escaso contenido en triglicéridos; por lo tanto no se debe esperar que su presencia se acompañe con la elevación de dichas grasas neutras.
- b) Toda banda que aparente tener movilidad pre-beta lenta, que no se acompañe de elevación de triglicéridos, debe hacer presumir la existencia de pre-beta₁, y aplicar la metodología más adecuada para verificarlo.
- c) Los medicamentos hipolipemiantes usuales no la modifican (17); como tampoco lo hace una ingesta reciente, a juzgar por nuestras observaciones.

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Dahlen y cols. (17), Papadopoulos y cols. (18) y Carlson y cols. (21). Dichos grupos hallaron una mayor incidencia de pre-beta₁ en pacientes con afec-

ciones coronarias, en comparación con grupos controles. Knoblock (19) remarca sus características genéticas cuando señala la mayor prevalencia de pre-beta₁ en jóvenes con historia familiar con afecciones cardiovasculares. Si bien en nuestro grupo se conservó la relación entre pacientes coronarias y controles, nuestros porcentajes de positividad son menores que los de Papadopoulus y muy semejantes a los que informa Dahlen en enfermos con angina pectoris.

Creemos que factores genéticos pueden explicar en parte tales diferencias.

De todo lo expuesto, concluimos al igual que los otros autores que han estudiado esta

lipoproteína en relación con enfermedades cardiovasculares, que la presencia de pre-beta₁ puede considerarse como un nuevo factor de riesgo en la aterosclerosis coronaria.

Asimismo, dadas sus características genéticas y la simplicidad de su detección, ante la presencia de un paciente que evidencie presencia de pre-beta₁ en su lipidograma electroforético debería indicarse un estudio familiar.

—Los autores agradecen al Dr. Carlos Bruno (Sanatorio Güemes) por el estudio de los pacientes.

TABLA I

	Prueba	Nº	pre β ₁ neg.	pre β ₁ posit.	%
Coronarios	Clínica Ergometría Coronariograf.	138	91	47	34,1
Controles	Clínica Ergometría	29	25	4	13,8

SUMMARY

INCIDENCE OF PRE β₁ LIPOPROTEIN IN LIPID ELECTROPHORETIC PATTERN ON AGAROSE GEL IN CORONARY PATIENTS.

The study of the incidence of pre-beta₁ lipoprotein is made in 29 control people and in 138 coronary patients analyzed from the clinic point of view and with ergometric and cinecoronariographic tests.

For that, it is utilized the electrophoretic separation in agarose gel and poliacrilamide, characterizing the pre-beta₁ lipoprotein band with preparative ultracentrifugation and posterior electrophoresis of the fractions obtained.

Making the x² test, it is noted that the incidence of pre-beta₁ LP in patients with coronary atherosclerosis is significantly greater than the controls being normal or hyperlipemics (p < 0.001).

The presence of the pre-beta₁ LP may be considered as a new risk factor in atherosclerosis.

In virtue of the genetic characteristic, in the presence of a patients pre-beta₁ LP, it must be indicated a familiar study.

BIBLIOGRAFIA

- Noble, R. P.: J. Lipid Res., 9: 693, 1968.
- Wille, L. E.: Acta Med. Scand. 188: 241, 1970.
- Pratt, J. J.; Dangerfield, W. G.: Clin. Chim. Acta 23: 189, 1969.
- Mead, M.; Dangerfield, W. G.: Clin. Chim. Acta 51: 173, 1974.
- Dahlen, G.; Ericson, C.; Lundkvist, L.; Swárdstudd, K.: Acta Méd. Scand. Supp. 531, Papper III: 17, 1972.
- Berg, K.: Acta Path. Microbiol. Scand. 59: 369, 1963.
- Dahlen, G.: Acta Méd. Scand. Supp. 531: 11, 1972.
- Huang, T. G.; Chen, C. P.; Wefler, V.; Rafteri, A.: Anal. Chem. 33: 10, 1961.
- Eggstein, M.: Klin. Wschr. 44: 267, 1966.
- Chavrol, C.; Charonnat, M.: Clin. Chim. Acta 22: 571, 1968.
- Banchik, M. E.; Paglione, A. M.; Fagnani, G.; Wikinski, R. W.: Revista A.B.A. 38: 205, 1973.
- Paglione, A. M.; Eanchisk, M. E.; Mollerach, M.; Wikinski, R. W.: Técnicas propuestas. III Congreso Arg. de Bioquímica (1975).
- Halperin, H. K.; Stollar, A.; Grossman, H.; Wikinski, R. W.: Revista A.B.A. 39: 211, 1974.
- Wieland, H.; Seidel, D.: Clin. Chem. 19: 1139, 1973.
- Fellin, R.; Agostimi, B.; Rost, W.; Seidel, D.: Clin. Chim. Acta 54: 325, 1974.
- Morriset, J.; Jackson, R.; Gotto, A.: Ann. Rev. Bioch. 184: 1975.
- Frick, M. H.; Dahlen, G.; Furberg, C.; Ericson, C.; Wiljasalo, M. Acta Med. Esc. 195: 337, 1974.
- Papadopoulus, N. M.; Bedynek, J. L.: Clin. Chim. Acta 44: 153, 1973.
- Knoblock, E. C.; Hall, J.: Div. of Clin. Path. Univ. Hosp. Balto (1973).
- Bonanno, J. A.; Lies, J. E.: Am. J. Cardiol. 33: 760, 1974.
- Carlson, I. A.: J. Clin. Pathol. Suppl. 265: 43, 1973.
- Siminc, K.; Christian, E.; Ossi, R.; Björn, B.: Acta Pathol. Microbiol. Scand. Section B, 78: 549, 1970.