

EFEECTO DE LA INYECCION DE HEPARINA SOBRE LOS LIPIDOS DE LAS LIPOPROTEINAS PLASMATICAS

II) HIPERLIPOPROTEINEMIAS SECUNDARIAS

ALBERTO ACHAVAL (a)
RICARDO H. SMITH (b) y
JORGE GARCIA PINNA (a)

(a) Departamento de Angiología, Hospital Privado, Av. Vélez
Sársfield 2350, 5000 Córdoba.

(b) Pasaje Ingeniero López 844, Altos de Santa Ana, Córdoba

Hace casi cuarenta años, Hahn (28) observó que la inyección de sangre heparinizada aceleraba la depuración plasmática de quilomicrones. Tal efecto podía ser reproducido por la inyección de heparina, pero ésta era inactiva in vitro. Estos hallazgos fueron pronto confirmados por Weld (54), quien intentó localizar el órgano u órganos reponsables por medio de experimentos de perfusión regional, concluyendo que la depuración de quilomicrones tenía lugar en varios tejidos. Tales hallazgos atrajeron la atención de múltiples investigadores, y desde entonces es mucho lo que se ha escrito sobre el tema. Se dispone de excelentes trabajos de revisión, que nos eximen de una consideración detallada del mismo (50, 29, 40, 51, 6, 38, 21).

La inyección de heparina induce la aparición en los fluidos circulantes de por lo menos cuatro enzimas que ocupan un lugar central en el metabolismo de las lipoproteínas que transportan triglicéridos, es decir los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Tales enzimas son la lipoprotein lipasa (LPL), una lipasa de origen hepático (LOH), una fosfolipasa A₁ y una hidrolasa de monoglicéridos.

La LPL se encuentra en numerosos tejidos, siendo cuantitativamente más importante en tejido adiposo y músculos. Tanto ella como la LOH hidrolizan los triglicéridos de los quilomicrones y de las VLDL, liberando glicerol y ácidos grasos para su ulterior depósito u oxidación. Monoglicéridos y fosfolípidos son también hidrolizados después de la inyección

de heparina (25, 53, 57, 33, 20). Achával y colaboradores (1) observaron que los triglicéridos de las lipoproteínas de elevada densidad (HDL) son afectados in vivo por la actividad lipolítica post heparínica en igual medida que los triglicéridos de otras lipoproteínas.

La lipoprotein lipasa (LPL) y la lipasa de origen hepático (LOH) se encuentran localizadas en los endotelios vasculares y en las membranas de las células hepáticas respectivamente (5), siendo liberadas de dichos lugares por la heparina. En el plasma obtenido después de inyectar dicho compuesto (PPH), se puede, por lo tanto, estudiar actividades lipolíticas (ALPH) por diversas técnicas. La mayor parte de los autores ha estudiado la ALPH in vitro, utilizando substratos naturales o artificiales. En las investigaciones iniciales se estudió la actividad lipolítica total, pero recientes desarrollos técnicos han permitido evaluar por separado la actividad de la LPL, de la LOH y de la fosfolipasa A₁ (19). Sin embargo, a pesar de tales refinamientos técnicos, no es fácil establecer correlaciones claras entre los cambios en la actividad de dichas enzimas y el metabolismo de las lipoproteínas. Tal dificultad puede ser parcialmente debida a que la estimación in vitro de las actividades enzimáticas es, en el mejor de los casos, sólo una medida indirecta de su actividad in vivo, a nivel tisular, y sobre sus substratos naturales (24, 56). Por ejemplo, se ha observado que en ciertos casos de hiperlipoproteinemia primaria tipo I, clásicamente atribuida a una deficiencia de LPL, puede coincidir una significativa hiperquilomicronemia con niveles normales de ALPH (13).

Se puede postular que una actividad enzimática normal in vitro podría coincidir con una actividad anormal in vivo a causa de: A) Substratos resistentes (49, 18). B) La presencia de inhibidores de la reacción: Las estimaciones de la actividad enzimática in vitro han sido diseñadas para obtener una lipólisis óptima; por lo tanto es concebible que inhibidores de la reacción, activos in vivo, puedan no ser detectados in vitro. Se han encontrado inhibidores en casos de insuficiencia renal (41), pancreatitis alcohólica (32) y en cirrosis hepática (16). C) Anormalidades en la interacción de las enzimas con sus substratos endógenos, como ha sido demostrado en ciertos casos de diabetes descompensada (12, 48). D) Reducción en las propiedades activadoras de las lipoproteínas por perturbaciones de su estructura proteica, como ocurre en el síndrome nefrótico (31), en la hipertrigliceridemia endógena (14, 36), y particularmente en quienes padecen una deficiencia congénita de apolipoproteína C II (10, 55, 15).

En un intento de encontrar respuesta a tales interrogantes se ha recurrido al estudio de las enzimas en biopsias de tejidos (17, 44, 52, 45, 46, 39, 47, 27, 22). Tales investigaciones han arrojado mucha luz sobre la fisiología y sobre la fisiopatología del metabolismo intermedio de las lipoproteínas, pero, por utilizar estimaciones in vitro de las actividades enzimáticas tisulares, comparten ciertas limitaciones con el estudio in vitro de las enzimas liberadas a los fluidos circulantes por la heparina. Por otra parte, el requerir biopsias de tejidos hace muy difícil su introducción en la práctica diaria.

Las dificultades técnicas inherentes a las estimaciones in vitro de las actividades enzimáticas han conspirado en contra de su aplicación rutinaria. La falta de correlación —ya citada— entre los datos de las actividades enzimáticas in vitro y otros parámetros del metabolismo de las lipoproteínas, han limitado su utilidad en el diagnóstico y en la evaluación de diferentes modalidades terapéuticas. Por tales motivos decidimos investigar la utilidad de una técnica sencilla, utilizable en la práctica diaria, orientada a la estimación de la ALPH in vivo en sujetos normales y portadores de hiperlipoproteinemias primarias y secundarias. Los hallazgos correspondientes a las primeras han sido recientemente publicados (2). Presentaremos a continuación los resultados del estudio de pacientes portadores de formas secundarias de tales aberraciones metabólicas.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 68 personas normales y 43 portadores de hiperlipoproteinemias secundarias. Cada uno de ellos fue sometido a un examen clínico completo por uno de nosotros (A. A.), que incluyó ECG, radiografía de tórax, test de tolerancia a la glucosa, y los análisis considerados de rutina. Las mujeres fueron referidas a un especialista para examen ginecológico y test de Papanicolaou. Se llevaron a cabo además las investigaciones complementarias requeridas para el diagnóstico de las enfermedades concurrentes que fueron detectadas, y para la clasificación de las hiperlipoproteinemias, de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (7).

En los dos grupos fueron incluidos sujetos portadores de anormalidades menores, sin influencia alguna sobre el metabolismo intermedio, tales como insuficiencia venosa, cefaleas por tensión, ciática, artrosis, etc. En los portadores de hiperlipoproteinemias secundarias se excluyó la presencia de otras enfermedades con influencia posible sobre el metabolismo intermedio. Se requirió que ninguno de los sujetos estuviera convalesciendo de una enfermedad aguda, y que todos estuvieran activos, plenamente dedicados a sus tareas habituales.

Durante el mes previo al estudio siguieron una dieta libre isocalórica, con excepción de los diabéticos, a quienes se recomendó abstenerse de ingerir sacarosa, y reducir a un mínimo los carbohidratos complejos.

Se autorizó la ingestión de 25 gramos de alcohol por día, con excepción de los alcoholistas, quienes prosiguieron con su ingesta habitual de alcohol, que oscilaba entre 120 y 180 gramos diarios.

Se excluyó a quienes debían ingerir medicamentos regularmente, con excepción de los diabéticos, a quienes se siguió tratando con las dosis de sulfonilureas o de insulina que estaban recibiendo al concurrir a la consulta. No se intentó mejorar el grado de control de la diabetes antes de llevar a cabo el estudio. Durante el mes anterior al test los diabéticos no mostraron cetonuria y su glucemia osciló entre 110 y 210 mg./dl.

El diagnóstico de normalidad metabólica y de hiperlipoproteinemia se estableció sobre la base de por lo menos dos determinaciones independientes de las concentraciones de colesterol y triglicéridos y una electroforesis de lipoproteínas sobre papel, utilizando buffer con albúmina; estos análisis se llevaron a cabo después de por lo menos dos semanas de inge-

TABLA I
 SUJETOS NORMALES

	EDAD	PESO (Kg.)	TALLA (cm.)	TRIGLICERIDOS (mg./dl.)			
				A (1)	B (2)	A-B	$\frac{A-B}{A} \times 100$
HOMBRES (N=34)							
Promedio	43,6	75,6	170,9	120,0	59,1	60,9	50,8
E. S.	2,2	2,2	0,9	4,5	3,2	3,2	1,9
MUJERES (N=34)							
Promedio	42,1	67,1	159,3	85,4	48,1	37,2	44,7
E. S.	2,6	2,3	1,0	6,2	4,4	3,3	2,1
p menor que	N.S.	.0005	.0005	.0005	.025	.0005	.025

(1) Muestra obtenida en condiciones basales.

(2) Muestra obtenida 10 minutos después de inyectar heparina (10u./kg.).

rir una dieta libre isocalórica y por lo menos cuatro semanas después de suspender medicamentos con efecto sobre el metabolismo de las lipoproteínas.

El estudio se llevó a cabo después de por lo menos cuatro semanas de ingerir una dieta libre isocalórica. Las mujeres que todavía menstruaban fueron estudiadas durante los diez primeros días de su ciclo. Después de un ayuno de doce horas, se tomó una muestra de sangre y se inyectó 10 unidades de heparina por kilogramo de peso, tomándose una segunda muestra diez minutos más tarde. En la primera se analizó la concentración de colesterol, de triglicéridos (A) y el patrón electroforético; cuando los resultados no fueron concordantes con los de los análisis iniciales, el caso fue excluido. En la segunda muestra se determinó solamente la concentración de triglicéridos (B). Al analizar los resultados se tuvo en cuenta la diferencia entre ambas en términos absolutos (A-B) y esta diferencia expresada como porcentaje de la concentración inicial ($A-B/A \times 100$).

El significado de las diferencias entre promedios y entre porcentajes fue determinado por medio del test de Student. Se consideró que una diferencia con un valor "p" entre 0,05 y 0,02 era de significado dudoso, siendo su significado cierto cuando la "p" era menor de 0,02. El mismo criterio se aplicó a los valores de "p" utilizados para evaluar la precisión de los coeficientes de correlación (r).

RESULTADOS

1) Sujetos Normales:

Los resultados están resumidos en la Tabla I. Se puede observar en la misma la edad, el peso y la talla de 34 hombres y

34 mujeres. Se dan los valores del promedio, del error standard (E. S.) y de "p" para la comparación entre los dos grupos.

Hombres y mujeres no diferían en edad, pero los hombres eran más altos y pesados, como era de esperar. Las concentraciones iniciales de triglicéridos (A), las finales (B), la diferencia entre ambas expresadas en términos absolutos (A-B), y relativas ($A-B/A \times 100$), fueron inferiores en las mujeres.

II) Hiperlipoproteinemias secundarias:

A) **Diabetes:** Los datos han sido resumidos en la Tabla II. Se estudiaron 12 pacientes, de los que 9 presentaban un fenotipo IV (presencia de cantidades anormales de pre-beta lipoproteínas) y 3 un fenotipo V (presencia de cantidades anormales de pre-beta lipoproteínas y de quilomicrones). Con excepción de un caso de fenotipo IV que recibía insulina, los demás estaban controlados por medio de dieta, con o sin el añadido de sulfonilureas. Los datos del diabético insulino dependiente son presentados por separado. Para facilitar la comparación, al pie de la Tabla se incluyen los datos de los hombres normales.

1) Diabéticos de fenotipo IV controlados sin insulina: si bien los promedios de edad y peso eran superiores en los pacientes, las diferencias no llegaron a ser significativas. Las concentraciones de triglicéridos en las dos muestras, así como el descenso expresado en términos absolutos, eran mayores que en los sujetos normales. Cuando el descenso inducido por heparina fue expresado en términos relativos, se observó que era francamente inferior al de los controles.

2) Diabético de fenotipo IV que requería

insulina: Este sujeto, moderadamente excedido de peso, presentaba un gran exceso de triglicéridos, exceso contenido, por definición, exclusivamente en sus pre-beta lipoproteínas (VLDL). Después de dar heparina el descenso que tuvo lugar en la concentración de triglicéridos fue espectacular, ya que excedió ampliamente los observados en todos los otros pacientes descritos hasta ahora. Expresado en términos relativos, el descenso estuvo por encima del rango normal.

3) Diabéticos de fenotipo V: Ninguno de los tres requería insulina. Por definición, en ellos el exceso de triglicéridos estaba contenido tanto en quilomicrones como en pre-beta lipoproteínas (VLDL), aunque en el momento de la prueba la concentración basal de triglicéridos no haya estado demasiado elevada en dos de ellos. El descenso de su concentración que tuvo lugar después de recibir heparina, fue normal en términos

absolutos en dos de ellos y subnormal en el restante. Cuando fue expresado como fracción del valor basal, estuvo siempre por debajo del rango normal.

B) **Disfunción hepática no alcohólica:** En la Tabla III se consignan algunos datos de interés acerca de estos cinco pacientes, tal como los resultados de la retención de bromofenoltaleína, el test de tolerancia a la glucosa, los resultados del estudio histológico cuando fue llevado a cabo, y la posible etiología de la disfunción hepática. Las transaminasas, la protrombina y el proteinograma por electroforesis fueron normales en todos los casos. La bilirrubina también era normal con excepción del caso de Dubin-Johnson. Interesa notar que el test de tolerancia a la glucosa fue anormal en cuatro de los cinco casos. Todos ellos exhibían un fenotipo IV (exceso de pre-beta lipoproteínas o VLDL).

TABLA II
HIPERLIPOPROTEINEMIAS SECUNDARIAS (I)
DIABETES

	Edad	Peso (Kg.)	Talla (cm.)	A (1)	B (2)	TRIGLICERIDOS (mg./dl.)	
						A-B	$\frac{A-B}{A} \times 100$
DIABETICOS DE FENOTIPO IV (N=8) (3)							
Promedio	50.0	84.4	170.3	315.0	228.6	86.4	30.4
E. S.	4.4	3.9	2.4	48.8	45.0	9.0	4.3
p menor que (4)	N. S.	N. S.	N. S.	.01	.01	.02	.01
UN DIABETICO TIPO IV INSULINO - DEPENDIENTE							
	34	76	166	1.590	880	710	44.7
DIABETICOS DE FENOTIPO V (3)							
D. T. V ₁	47	91	169	211	197	14	6.6
D. T. V ₂	45	85	173	1.060	1.020	40	3.8
D. T. V ₃	46	102	175	262	189	73	27.9
HOMBRES NORMALES (N=34)							
Promedio	43.6	75.6	170.9	120.0	59.1	60.9	50.8
E. S.	2.2	2.2	0.9	4.5	3.2	3.2	1.9
Promedio \pm 3 E. S.	37.0-50.1	69.0-82.2	169.1-172.7	106.5-133.5	49.5-68.7	51.3-70.5	45.1-56.5

(1) Muestra obtenida en condiciones basales.

(2) Muestra obtenida 10 minutos después de inyectar heparina.

(3) Controlados con dieta con o sin el agregado de sulfonilureas

(4) Comparación con hombres normales.

TABLA III
PACIENTES CON DISFUNCION HEPATICA

	RETENCION DE B. S. F. (1)	T. T. G.	HISTOLOGIA	POSIBLE ETIOLOGIA
D. H. 1	9 o/o	Anormal	--	Ex-alcoholista, Obesidad, Diabetes latente.
D. H. 2	10 o/o	Anormal	--	Obesidad, Diabetes latente.
D. H. 3	14 o/o	Anormal	Degeneración grasa	Obesidad, Diabetes latente
D. H. 4	18 o/o	Normal	Degeneración grasa	¿Inhalación de solventes?
D. H. 5	7 o/o	Anormal	Dubin-Johnson	Diabetes latente

(1) Normal: Menor que 5 o/o a los 45 minutos.

TABLA IV
HIPERLIPOPROTEINEMIAS SECUNDARIAS (II)
DISFUNCION HEPATICA (FENOTIPO IV)

	EDAD	PESO (Kg.)	TALLA (cm.)	TRIGLICERIDOS (mg./dl.)			
				A (1)	B (2)	A-B	$\frac{A-B}{A} \times 100$
DH 1	47	81	169	255	155	100	39.2
DH 2	39	93	168	405	164	241	59.5
DH 3	56	91	174	197	91	106	53.8
DH 4	34	81	172	710	475	235	33.0
Promedio	44.0	86.5	170.8	391.8	221.3	170.5	46.4
E. S.	4.8	1.6	1.6	114.8	86.1	39.0	6.2
p menor que (3)	N. S.	.01	N. S.	.02	N. S.	.01	N. S.
DH 5 (4)	32	76	171				
(5)				1.136	1.000	136	12.0
(6)				1.128	1.000	128	11.4
(7)				600	472	128	21.3
HOMBRES NORMALES (N = 34)							
Promedio	43.6	75.6	170.9	120.0	59.1	60.9	50.8
E. S.	2.2	2.2	0.9	4.5	3.2	3.2	1.9
Promedio +3 E. S.	37.0-	69.0-	169.1-	106.5-	49.5-	51.3-	45.1-
	50.1	82.2	172.7	133.5	68.7	70.5	56.5

(1) Muestra obtenida en condiciones basales.

(2) Muestra obtenida 10 minutos después de inyectar heparina.

(3) Comparación con los sujetos normales.

(4) Enfermedad de Dubin-Johnson.

(5) Estudio llevado a cabo en las condiciones habituales.

(6) Después de 2 semanas de ingerir una dieta rica en grasas.

(7) Después de 2 semanas de ingerir una dieta pobre en carbohidratos más clofibrato (2g. por día).

En la Tabla IV se presentan los datos agrupados de los primeros cuatro pacientes; se desglosó el caso diagnosticado como Dubin-Johnson que se presenta por separado por haber sido estudiado en tres ocasiones diferentes. Para facilitar la comparación, al pie de la página se incluyen los datos de los hombres normales.

En los primeros cuatro pacientes el peso era superior al normal. La concentración basal de triglicéridos y el descenso inducido por heparina expresado en términos absolu-

tos fueron mayores que en los sujetos normales; en términos relativos el descenso estuvo dentro del rango normal. El paciente portador de una enfermedad de Dubin-Johnson fue estudiado en tres oportunidades diferentes: a) Bajo las condiciones generales descriptas más arriba. b) Después de dos semanas de ingerir una dieta rica en grasas. c) Después de 2 semanas de seguir una dieta pobre en carbohidratos, con el añadido de 2 gr. de clofibrato por día.

Los resultados de las dos primeras son

prácticamente idénticos, con valores basales muy elevados y descensos absolutos superiores a los normales, pero relativamente bajos. En la tercera, la concentración de triglicéridos se había reducido casi a la mitad, pero el descenso inducido por heparina fue prácticamente idéntico al observado en los tests anteriores; porcentualmente fue mayor, pero estuvo aún así por debajo del rango normal.

C) **Alcoholistas:** Se resume en la Tabla V los datos de 30 estudios llevados a cabo en 26 sujetos. En dos de ellos el fenotipo era IIb (exceso de beta y de pre-beta lipoproteínas), en uno era Tipo V y en los demás era Tipo IV. Aunque la dispersión de los valores es grande, se puede observar que la concentración basal de triglicéridos y el descenso absoluto eran francamente superiores a los del grupo control, mientras que el descenso relativo era inferior.

En la misma tabla se pueden ver los datos correspondientes a cinco sujetos que se abstuvieron por completo de beber alcohol y fueron estudiados nuevamente un mes más tarde. Se los seleccionó entre muchos que afirmaron no haber bebido alcohol durante el mismo período, por tenerse la razonable certidumbre de que decían la verdad. Antes del período de abstinencia la concentración basal de triglicéridos estaba elevada como en los demás, pero a diferencia de ellos el descenso absoluto causado por heparina era normal; el descenso relativo era muy bajo.

Cuando fueron estudiados nuevamente después del período de abstinencia, se pudo observar que la concentración basal de triglicéridos había descendido pero no al rango normal. El descenso absoluto se incrementó a más del doble, con lo que el descenso relativo fue claramente normal.

En la Tabla V se pueden ver también los valores de "p" correspondientes a la compara-

TABLA V
HIPERLIPOPROTEINEMIAS SECUNDARIAS
ALCOHOLISTAS

	EDAD	PESO (Kg.)	TALLA (cm.)	A (1)	B (2)	TRIGLICERIDOS (mg./dl.)	
						A-B	$\frac{A-B}{A} \times 100$
ALCOHOLISTAS (N=26, 30 tests)							
Promedio	41.9	84.4	170.2	514.2	321.7	100.9	28.6
E. S.	1.3	2.0	1.8	105.2	49.9	13.0	3.4
p menor que (3)	N. S.	.005	N. S.	.0005	.0005	.0025	.0005
ALCOHOLISTAS ABSTINENTES (N=5)							
Antes de la abstinencia							
Promedio	41.0	81.0	162.0	534	471	64	13.8
E. S.	0.9	3.0	5.0	213	198	17	23
Después de la abstinencia							
Promedio		Sin variaciones significativas		324	183	141	47.5
E. S.				70	60	26	9.5
p menor que (3)				.0005	.0005	.0005	N. S.
p menor que (4)				N. S.	N. S.	.05	.01
HOMBRES NORMALES (N=34)							
Promedio	43.6	75.6	170.9	120.0	59.1	60.9	50.8
E. S.	2.2	2.2	0.9	4.5	3.2	3.2	1.9
Promedio +3 E. S.	37.0-	69.0-	169.1-	106.5-	49.5-	51.3-	45.1-
-	50.1	82.2	172.7	133.5	68.7	70.5	56.5

(1) Muestra obtenida en condiciones basales.

(2) Muestra obtenida 10 minutos después de inyectar heparina (10u./kg.).

(3) Comparación con el grupo de sujetos normales.

(4) Comparación de los tests llevados a cabo antes y después del período.

ción de los tests llevados a cabo en los mismos sujetos antes y después de la abstinencia de alcohol: La diferencia entre los descensos absolutos inducidos por la heparina es de gran magnitud pero de significado dudoso por el escaso número de casos. Los descensos relativos son claramente más elevados después del período de abstinencia.

D) Los resultados de las investigaciones practicadas a todos los pacientes son resumidos en la Tabla VI.

III) Correlación entre la concentración basal de triglicéridos y su descenso absoluto:

La observación de los resultados permitió sospechar que existía una relación directa entre la concentración basal de triglicéridos y su descenso inducido por la heparina, expresado en términos absolutos (A-B).

Con el fin de explorar esta hipótesis se calculó los coeficientes de correlación (r) entre ambos valores para cada una de las categorías que contó con un número suficiente de pacientes y los valores de " p " correspondientes a los mismos (Tabla VII). Para facilitar las comparaciones se incluyen datos correspondientes a pacientes portadores de hiperlipoproteinemias primarias (2).

Los valores de " p " fueron menores de 0,02 con excepción de los correspondientes a "Diabéticos tipo IV" y a "Disfunción hepática" que fueron menores de 0,05; la diferencia puede explicarse por el escaso número de pacientes incluidos en las citadas categorías (8 y 4 respectivamente). Los valores de " r " oscilaron entre 0,69 y 0,90 en todas las categorías con excepción de los alcoholistas en los que " r " fue 0,58.

COMENTARIOS

En la introducción se resumieron las razones que nos indujeron a investigar la utilidad de un test que permitiera evaluar de una manera sencilla y reproducible el efecto de las enzimas activadas por la heparina sobre sus substratos naturales en la intimidad de los tejidos. En esta Sección se analizará, a la luz de la experiencia de otros autores, la metodología empleada y los resultados obtenidos.

A) Metodología:

Conviene evaluar primero la metodología empleada, en particular la dosis de heparina administrada, el tiempo seleccionado para

extraer la segunda muestra y las determinaciones analíticas efectuadas sobre esta última.

I) Dosis de heparina: Las dosis utilizadas por diversos autores han variado mucho. La mayor parte de las investigaciones iniciales utilizaron dosis bajas, en el orden de las 10 unidades de heparina por kilogramo de peso, tal como se hizo en este trabajo. A pesar de saber que dosis mayores resultaban en una mayor actividad enzimática, decidimos utilizar la citada por: 1) Su escasa actividad anticoagulante. 2) La experiencia adquirida en un trabajo previo (1), en el que observamos significativas alteraciones en la composición química de las lipoproteínas después de inyectar 10 u./kg. La liberación máxima, tanto de LPL como de LOH, parece requerir en el hombre 100 u./kg. (33) y en la rata 500 u./kg. (35). No está establecida la dosis que garantice la adquisición de un máximo de información con un mínimo de riesgo, lo que requerirá estudios comparativos. No se debe olvidar que la dosis de heparina utilizada como anticoagulante es precisamente 100 u./Kg., lo que limitaría significativamente su utilización en un test diagnóstico como el propuesto.

II) Tiempo de extracción de la segunda muestra: Achával y colaboradores demostraron que, después de inyectar 10 u./kg., la actividad lipolítica plasmática decrece en forma exponencial, con una vida media de 18,2 minutos en los sujetos normales y de 16,6 minutos en heterocigotas del tipo IIa. Cuando se extrajeron muestras de sangre 10,30 y 60 minutos después de la inyección, el máximo efecto se observó en la primera, con un gradual retorno hacia los valores basales (1). Con la misma dosis Boberg encontró que tanto la LPL como la LOH permanecen constantes en un máximo entre 10 y 20 minutos, para declinar después rápidamente (8). Por lo tanto, nos pareció adecuado obtener la segunda muestra 10 minutos después de la primera.

III) Determinaciones analíticas efectuadas sobre la segunda muestra: En la Tabla VIII se han resumido los resultados de una investigación anterior (1), en la que los lípidos de las lipoproteínas fueron separados en estado de pureza por medio de cromatografía sobre capa delgada de gel silíceo. Por medio de esta técnica se demostró por primera vez que los triglicéridos de los tres grupos de lipoproteínas son igualmente afectados por la ALPH. Además se observó un descenso en los fosfolípidos de las VLDL, pero no en los fosfolípidos de las HDL

TABLA VI
REDUCCION EN LA CONCENTRACION DE TRIGLICERIDOS

	Absoluta (mg./dl.)	Relativa (o/o de A)
I) Controles normales (N=68)	Mayor en hombres que en mujeres(p < .0005)	Mayor en hombres que en mujeres(p < .025)
II) H. L. P. secundarias		
A) Diabéticos estables (N=12)		
1) Tipo IV		
a) Tratados con dieta con o sin sulfonilureas (N=8)	Grande p < .02	Pequeña p < .01
b) Tratados con insulina (N=1)	Muy grande	Normal
2) Tipo V (N=3)	Pequeña (2) o normal (1)	Pequeña p < .001
B) Disfunción hepática leve (Tipo IV)		
1) Hombres (N=4)	Grande p < .01	Normal
2) Dubin-Johnson (3 tests en 1 paciente)	Grande	Pequeña
C) Alcohólicos		
A ₁) (N=26)	Grande p < .0025	Pequeña p < .0005
A ₂) (N=5)	Grande p < .0005	Normal
A ₃)	Grande p < .05	Grande p < .01
A ₁)	Bebían entre 120 y 180 gramos de alcohol por día.	
A ₂)	Después de 30 días de abstinencia.	
A ₃)	Comparación de los valores obtenidos antes y después de 30 días de abstinencia en cinco pacientes.	

TABLA VII
CORRELACION ENTRE LA CONCENTRACION BASAL DE TRIGLICERIDOS Y SU DESCENSO ABSOLUTO INDUCIDO POR LA INYECCION DE HEPARINA (A-B)

CATEGORIA	HOMBRES		MUJERES	
	r	p menor que	r	p menor que
1) Normales	0.70	0.01	0.69	0.01
2) H. L. P. primarias				
a) Ila	0.87	0.01	0.88	0.01
b) Iib	0.81	0.01	0.78	0.02
c) IV	0.76	0.01	0.78	0.01
3) H. L. P. secundarias				
a) Diabéticos Tipo IV	0.90	0.05	—	—
b) Disfunción hepática	0.81	0.05	—	—
c) Alcohólicos	0.58	0.01	—	—

ni de las LDL. Consideramos que, trabajando sin fraccionamiento de lipoproteínas, las alteraciones de los fosfolípidos de las VLDL se verían enmascarados por la estabilidad de los mismos en las otras dos lipoproteínas; por lo tanto restringimos nuestra investigación a los triglicéridos de la segunda muestra.

Cuando el descenso en la concentración de triglicéridos inducido por la heparina fue

expresado como por ciento de la concentración basal $-(A-B/A) \times 100$ se observaron valores muy similares en los tres grupos de lipoproteínas y en el plasma, tanto en los sujetos normales como en los pacientes afectados de hiperlipoproteinemia tipo Ila (1). Tales datos no pueden ser extrapolados a otros trastornos metabólicos, pero permiten presumir que las fluctuaciones en la concentración de triglicéridos totales, observa-

da después de la inyección de heparina, son representativas de lo que ocurre con los triglicéridos de cada una de las lipoproteínas.

Lo ocurrido con los triglicéridos de las lipoproteínas plasmáticas es el resultado de la acción de por lo menos tres enzimas, la LPL del tejido adiposo, la LPL del tejido muscular y la LOH localizada en el hígado. Las actividades de tales enzimas están sometidas a un complejo mecanismo de control, imperfectamente conocido; no fluctúan de manera paralela, y a veces lo hacen en sentido opuesto (17, 44, 52, 45, 46, 39, 47, 27, 22). Es concebible que fluctuaciones en la actividad de una de ellas sean oscurecidas o canceladas por fluctuaciones de otras en sentido inverso. Tales inconvenientes son inevitables en un diseño experimental como el aquí utilizado. Se intentó reducir su trascendencia prestando una meticulosa atención a la selección de los pacientes, estudiándolos clínicamente con detenimiento y uniformando dentro de lo posible las condiciones que rodearon la ejecución de los tests.

B) Resultados:

1) Consideramos primero ciertos aspectos relacionados con edad y sexo.

1) Edad: Krauss y colaboradores (33) observaron que la actividad de la LPL era mayor en adultos varones que en niños y adolescentes del mismo sexo; lo opuesto se observó para la actividad de la lipasa de origen hepático (LOH). En las mujeres la actividad de la LPL exhibió correlación positiva con la edad, lo que no se observó en la actividad de la LOH. En nuestro material la edad de los controles y de los pacientes era similar, con excepción de los hombres y mujeres portadores de hiperlipoproteinemia de tipo

IIb (2). Para los hombres la diferencia era de significado dudoso, pero fue más evidente en las mujeres, cuyo promedio de edad era 12,2 años superior al del grupo control. Para todos los grupos fue evidente una absoluta falta de correlación entre la edad y el descenso en la concentración de triglicéridos, expresada tanto en valores absolutos como relativos.

2) Sexo: La actividad de la LPL en tejido adiposo y en plasma obtenido después de la inyección de heparina es mayor en las mujeres que en los hombres, mientras que no hay diferencias en la LPL del tejido muscular (44, 46, 30). En nuestro grupo de sujetos normales, el descenso en la concentración de triglicéridos, expresado en términos tanto absolutos como relativos, fue superior en los hombres. En los portadores de hiperlipoproteinemias primarias no se observó diferencias entre sexos (2). Tales discrepancias pueden explicarse por la dosis utilizada ya que las diferencias entre sexos pueden no hacerse evidentes cuando se utilizan dosis bajas de heparina (30).

Teniendo en cuenta la diferencia observada entre los hombres y mujeres de nuestro grupo control, los sexos fueron tratados por separado en todos los casos.

II) Hiperlipoproteinemias secundarias.

1) **Diabetes mellitus:** (Tabla II) desde cierto punto de vista nuestro grupo de pacientes es heterogéneo, ya que algunos exhibían un fenotipo IV y otros un fenotipo V; algunos estaban controlados con dieta, otros recibían sulfonilureas y uno se inyectaba insulina. Para compensar parcialmente tal heterogeneidad se separó los pacientes de acuerdo con su fenotipo y se desglosó del fenotipo IV al que recibía insulina. Desde otro punto de vista, nuestros pacientes compartían muchas características de importancia: eran del mismo sexo y aproximadamente de la misma edad; ninguno había tenido episodios de acidosis; durante el mes anterior al estudio la orina recogida en ayunas no contuvo glucosa ni cuerpos cetónicos y la glucemia osciló entre 110 y 210 mg./dl. Se los podría catalogar por lo tanto, como diabéticos estables imperfectamente tratados y modestamente descompensados. Por lo tanto, no incluiremos aquí referencias a trabajos llevados a cabo en animales o seres humanos insulinoprivos, situación metabólicamente muy diferente.

En diabéticos la LPL de origen muscular y la lipasa de origen hepático son normales, mientras que la LPL del tejido adiposo

TABLA VIII
EFFECTO DE LA INYECCION DE HEPARINA SOBRE
LOS LIPIDOS DE LAS LIPOPROTEINAS
PLASMATICAS (x)

	LIPOPROTEINAS		
	ELEVADA DENSIDAD	BAJA DENSIDAD	MUY BAJA DENSIDAD
LIPIDO			
COLESTEROL			
Libre	No varió	No varió	No varió
Esterificado	No varió	No varió	No varió
TRIGLICERIDOS	Descendió	Descendió	Descendió
FOSFOLIPIDOS	No varió	No varió	Descendió

(x) Achával A., Ellefson R. D., Juergens J. L., Tauxe W. N.: Circulation (Suppl. III) 1, 1966.

es deficiente y no se incrementa después de una comida como normalmente ocurre (47, 43). En la mayor parte de los diabéticos imperfectamente compensados, la actividad lipolítica postheparínica del plasma (ALPH) es normal después de inyectar una dosis pequeña de heparina, pero se hace subnormal después de una infusión prolongada. Las anomalías citadas no están presentes en pacientes perfectamente compensados.

Una evaluación detenida de nuestros pacientes permite reconocer una única diferencia importante entre los portadores de hiperlipoproteinemia primaria tipo IV y los diabéticos con hiperlipoproteinemia secundaria y fenotipo IV: hiperglucemia en ayunas (2). Conviene recordar además, que muchos de los primeros tenían tests de tolerancia a la glucosa anormales. No sorprende por lo tanto, el similar comportamiento de ambos grupos después de recibir heparina. Creemos que comentarios referentes a portadores de un tipo IV primario pueden aplicarse también a los portadores de un tipo IV secundario a la diabetes.

Persson (46) y Larsson (37) demostraron una deficiencia en la actividad de la LPL por unidad de peso del tejido adiposo en pacientes de tipo IV. Boberg (9) y Huttunen y colaboradores (30) encontraron que la LPL plasmática era también menor. Sin embargo, no todos los datos sugieren deficiencia de las enzimas en sujetos portadores de un fenotipo IV primario: Algunos de los pacientes de Huttunen (30) tenían valores normales de LPL en plasma y todos ellos exhibían una actividad de la lipasa hepática normal o aumentada. Goldberg y colaboradores (23) investigaron la LPL en tejido adiposo en ayunas y después de una comida, encontrando valores normales, tanto en el tipo IV como en otras hipertrigliceridemias genéticamente determinadas. La situación se complica aún más si se tiene en cuenta que ciertos autores postulan un defecto en las apolipoproteínas de sujetos portadores de un fenotipo IV, que las haría resistentes a la acción de la LPL, aunque ésta tuviera una actividad normal (14, 36).

Recordando la dependencia de la LPL del tejido adiposo con respecto al estímulo insulínico (51) no sorprende la espectacular respuesta a la heparina del diabético tratado con dicha hormona. En términos absolutos el descenso fue más de diez veces superior al promedio normal y tres veces superior al del

sujeto que más se le aproximó desde este punto de vista.

Los diabéticos de fenotipo V se distinguían de los de fenotipo IV solamente por la quilomicronemia en ayunas. Sin embargo, después de recibir heparina, el descenso en la concentración de triglicéridos fue inferior al normal en dos de ellos y normal en el restante. Esto los distingue claramente de los diabéticos de fenotipo IV y de los portadores de hiperlipoproteinemia primaria tipo V, en quienes el descenso de la concentración de triglicéridos inducido por la heparina fue claramente superior al normal. Son varias las posibles causas del reducido clearance de triglicéridos en estos pacientes y nuestros datos no nos permiten discriminar entre ellas.

2) Disfunción hepática: (Tablas III y IV).

Estos pacientes fueron separados de los demás de fenotipo IV por la anomalía de la retención de bromofenolftaleína. Esta investigación no fue indicada rutinariamente; se la solicitó cuando algún dato de la historia clínica o del examen físico sugirieron la existencia de una hepatopatía. Por lo tanto, es posible que dentro de los demás grupos hayan quedado incluidos pacientes portadores de disfunción hepática —según nuestra definición— que no fue reconocida.

La normalidad de las demás investigaciones —con excepción de la bilirrubina en el caso de Dubin-Johnson— indica que la función hepática estaba modestamente comprometida. En los casos 3 y 4 el estudio histológico mostró degeneración grasa, y es muy probable que éste haya sido el substrato anatómico en los casos 1 y 2. Conviene recordar que en cuatro de los cinco casos el test de tolerancia a la glucosa fue anormal.

En la cirrosis hepática se ha descrito la presencia de inhibidores de la actividad lipolítica plasmática activada por la heparina (ALPH) (16) pero ninguno de nuestros pacientes cae en esta categoría. La actividad de la lipasa de origen hepático (LOH) está disminuida en la uremia (4), durante la administración de estrógenos (3), en el hipotiroidismo (34) y en la hiperlipoproteinemia tipo IIa (42). No disponemos de información con respecto a su comportamiento en hepatopatías leves.

En nuestros pacientes, excluyendo el caso de Dubin-Johnson, el descenso en la concentración de triglicéridos estuvo por encima de lo normal en todos los casos; cuando el

descenso fue expresado como por ciento del valor basal, dos pacientes estuvieron por debajo del rango normal y dos dentro de éste. El comportamiento de este grupo no difiere mucho de los hombres portadores de fenotipo IV primario (2).

El caso de Dubin-Johnson, fue de gran interés para nosotros por la severa hipertrigliceridemia que se acompañaba de crisis recurrentes de dolor abdominal. Fue estudiado en tres oportunidades diferentes, tal como está resumido en la tabla IV. Su respuesta a la heparina es muy similar a la de los sujetos identificados como DH1 y DH4, con reducciones absolutas de la concentración de triglicéridos superiores a lo normal, y reducciones relativas inferiores a lo normal, por el elevado valor basal. En el caso que nos ocupa interesa destacar la sorprendente similitud en los valores de (A-B), a pesar de haberse llevado a cabo los tests en condiciones diferentes y con diversas concentraciones basales de triglicéridos. La combinación de dieta pobre en carbohidratos con la administración de clofibrato durante dos semanas redujo a la mitad la concentración basal de triglicéridos, sin afectar para nada la magnitud del descenso inducido por la heparina. Este no es argumento que sirva para negar el demostrado efecto del clofibrato sobre la actividad de la LPL, ya que puede manifestarse recién a las cuatro semanas (26).

3) Alcoholistas: (Tabla V). Estos pacientes fueron separados de los demás, teniendo en cuenta el efecto inhibitor del alcohol sobre la actividad lipolítica del plasma inducida por heparina (ALPH) (29, 40). La gran mayoría (23 de 26 pacientes) presentaba un fenotipo IV, y la respuesta del grupo a la inyección de heparina fue indistinguible de la de los hombres con tipo IV primario (2). De esta observación podría emerger la idea de que el alcohol, en la cantidad ingerida por estos sujetos (120 a 180 ml. de alcohol puro por día) no tiene un efecto perceptible sobre la actividad enzimática inducida por heparina. Sin embargo, cuando se estudió de nuevo un pequeño grupo después de un mes de abstinencia se observó que el descenso absoluto de la concentración de triglicéridos inducido por heparina fue más del doble y el descenso relativo se triplicó. Se podría concluir que el grupo de pacientes que ingería cantidades excesivas de alcohol adquirió de esta manera un trastorno metabólico en cierta medida similar al padecido por los portadores de un fenotipo IV

primario, trastorno que demostró ser parcialmente reversible con sólo un mes de abstinencia.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se investigaron las consecuencias de la activación de enzimas lipolíticas por la heparina exógena, determinando los cambios en la concentración de su substrato natural, los triglicéridos de las lipoproteínas plasmáticas. Los límites de la respuesta normal fueron establecidos por medio del estudio de 34 hombres y 34 mujeres. Los sujetos del experimento fueron 43 portadores de hiperlipoproteinemias secundarias. En cada caso se llevó a cabo un examen clínico completo que permitió excluir enfermedades concurrentes y clasificar con precisión las HLP. La concentración de los triglicéridos plasmáticos fue determinada antes (A) y 10 minutos después (B) de la inyección de 10u. de heparina por kilogramo de peso. La diferencia entre A y B fue expresada en mg./dl. (reducción absoluta) y como por ciento de A (reducción relativa).

Se puede concluir que: 1) Por medio de la técnica propuesta es fácil estimar la actividad de las enzimas lipolíticas que son activadas por la heparina, mientras actúan sobre sus substratos naturales en la intimidad de los tejidos. 2) Una obvia limitación, inherente a la naturaleza del diseño experimental, es la imposibilidad de distinguir entre los efectos de la lipasa de origen hepático, la lipoprotein-lipasa originada en el tejido muscular, y la originada en el tejido adiposo. 3) La técnica propuesta podría quizás proporcionar más información incrementando la dosis de heparina y determinando la concentración de triglicéridos en cada una de las lipoproteínas, en vez de hacerlo en plasma. 4) Creemos que nuestra técnica puede ser útil tanto en el laboratorio de rutina, como en el de investigaciones metabólicas: En el primero, porque es la única que puede llevarse a cabo fácil y económicamente en grandes grupos de pacientes. En el segundo, porque no comparte con los métodos *in vitro* muchas de sus limitaciones; si se llevaran a cabo simultáneamente es posible que una nueva luz iluminara hechos conocidos pero de difícil interpretación.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

We investigated the consequences of the activation of lipolytic enzymes by means of exogenous heparin, determining the changes in concentration of their natural substrates, the triglycerides of the circulating lipoproteins. The normal ranges were established through the study of 34 males and 34 females. Subjects of the experiment were 43 patients with secondary hyperlipoproteinemias. A complete clinical examination was performed in each case, that allowed the exclusion of associated diseases, and the accurate classification of the hyperlipoproteinemias. The concentration of serum triglycerides was determined before (A) and 10 minutes after (B) the injection of 10u. of heparin per kilogram of body weight. The difference between A and B was expressed in mg./dl. (absolute decrease), and as a percentage of A (relative decrease).

It can be concluded that: 1) By means of the proposed technique it is easy to estimate *in vivo* the activity of the lipolytic enzymes that are stimulated by heparin as they attack their natural substrates. 2) An obvious inherent limitation of this approach is its inability to distinguish between the effect of the hepatic triglyceride lipase, the adipose tissue lipoprotein lipase and the muscular tissue lipoprotein lipase. 3) The proposed technique could perhaps provide more information increasing the dose of heparin and performing the triglyceride assays in each of the different plasma lipoproteins. 4) We believe that our approach to the investigation of heparin activated lipases could be useful both in the routine and in the research laboratories. In the former because it is the only technique that can be easily performed in large numbers of patients. In the latter because it overcomes many of the known limitations of the *in vitro* assays of the enzymes. Performed together, new light could perhaps be shed on known facts.

REFERENCIAS

- 1) Achával A., Ellefson R. D., Juergens J. L. y Tauxe W. N. The effect of lipoprotein lipase on human serum lipoproteins *in vivo*. *Circulation (Suppl. III)*: 1, 1966.
- 2) Achával A., Smith R. H. y García Pinna J.: Efecto de la inyección de heparina sobre los lípidos de las lipoproteínas plasmáticas. I) Hiperlipoproteinemias primarias. *Medicina (Bs. As.)* 42 (Supl. 1): 27 - 38, 1982.
- 3) Applebaum D. M. y col.: Effect of estrogen on post-heparin lipolytic activity: selective decline in hepatic triglyceride lipase. *J. Clin. Invest.* 59:601, 1977.
- 4) Applebaum D. M. y col.: Post heparin plasma triglyceride lipase in chronic hemodialysis: Evidence for a role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Metabolism* 28:917, 1979.
- 5) Assman G., Fredrickson D. S. y col.: Characterization, subcellular localization and partial purification of a heparin released triglyceride lipase from rat liver. *J. Biol. Chem.* 248:1992, 1973.
- 6) Augustin J. y col.: Human postheparin plasma lipolytic activities. En "Lipoprotein Metabolism". Ed. por H. Greten. Springer-Verlag, New York, 1976. P. 7.
- 7) Beaumont J. L. y col.: Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Bull. W. H. O.* 43:891, 1971.
- 8) Boberg J. y Carlson L. A.: Determination of heparin-induced lipoprotein lipase activity in human plasma. *Clin. Chem. Acta* 10:420, 1964.
- 9) Boberg J.: Heparin released blood plasma lipoprotein lipase activity in patients with hyperlipoproteinemia. *Acta Med. Scand.* 191:97, 1972.
- 10) Breckenridge W. C. y col.: Hypertriglyceridemia associated with a deficiency of apolipoprotein C II. *New Eng. J. Med.* 298:1.265, 1978.
- 11) Brunzell J. D., Porte D. y Bierman E. L.: Reversible abnormalities in postheparin lipolytic activity during the late phase of release in diabetes mellitus. *Metabolism* 24:1.123, 1975.
- 12) Brunzell J. D., Porte D. y Bierman E. L.: Abnormal lipoprotein lipase mediated plasma triglyceride removal in untreated diabetes mellitus associated with hypertriglyceridemia. *Metabolism* 28:901, 1979.
- 13) Burton B. K., y Hadler H. L.: Primary type I hyperlipoproteinemia with normal lipoprotein lipase activity. *J. Pediatr.* 90:177, 1977.
- 14) Carlson L. A. y Ballantyne D.: Changing relative proportions of apolipoprotein C II and C III of VLDL in hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 23:563, 1976.
- 15) Cox D. W., Breckenridge W. C. y Little J. A.: Inheritance of apolipoprotein C II deficiency with hypertriglyceridemia and pancreatitis. *New Eng. J. Med.* 299:1.421, 1978.
- 16) Datta D. V.: The mechanism of low post heparin plasma lipolytic activity in patients with cirrhosis of the liver. *J. Lab. Clin. Med.* 67:461, 1966.
- 17) Ekman R. y Nilsson-Ehle I.: Effects of apolipoproteins on lipoprotein lipase activity of human adipose tissue. *Clin. Chem. Acta.* 63:29, 1975.
- 18) Engelberg H.: Studies of human serum and plasma inhibition of lipase activity of postheparin clearing factor. *Am. J. Clin. Path.* 38:367, 1962.
- 19) Enholm C. y col.: Effect of oxandrolone treatment on the activity of lipoprotein lipase, hepatic lipase and phospholipase A₁ of human postheparin plasma. *N. Eng. J. Med.* 292:1.314, 1975.
- 20) Fielding C. J.: Further characterisation of lipoprotein lipase and hepatic postheparin lipase from rat plasma. *Biochem. Biophys. Acta* 280:569, 1972.

- 21) Fielding C. J.: Origin and properties of remnant lipoproteins. En "Disturbances in lipid and lipoprotein metabolism". Ed. por J. M. Dietschy, A. M. Gotto, y J. A. Ontko. Am. Physiol. Soc., Bethesda, 1978. P. 83.
- 22) Goldberg A. P., Sherrard D. J., Brunzell J. D.: Adipose tissue lipoprotein lipase in chronic hemodialysis: Role in triglyceride metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 47:1.173, 1978.
- 23) Goldberg A. P., Chait H. y Brunzell J. D.: Postprandial adipose tissue lipoprotein lipase in primary hipertriglyceridemia. *Metabolism*. 29:223, 1980.
- 24) Glueck C. J.: Postheparin lipoprotein lipases (Editorial). *New. Eng. J. Med.* 292:1.347, 1975.
- 25) Greten H., Levy R. I. y Fredrickson D. S.: Evidence for separate monoglyceride hydrolase and triglyceride lipase in human post heparin plasma. *J. Lipid. Res.* 10:326, 1969.
- 26) Greten H. y col.: Comparison of assay methods for selective measurement of plasma lipases. *Atherosclerosis* 26:563, 1977.
- 27) Guy Grand B. y Bigorie B.: Effect of fat cell size, restrictive diet and diabetes on lipoprotein lipase released by human adipose tissue. *Horm. Metabol. Res.* 7:471, 1975.
- 28) Hahn P. F.: Abolishment of alimentary lipemia following the injection of heparin. *Science* 98:19, 1943.
- 29) Havel R. J.: Metabolism of lipids in chylomicrons and very low density lipoproteins. En "Handbook of Physiology", Section V: Adipose Tissue. Ed. por A. E. Renolds y G. F. Cahill. Am. Physiol. Soc., Washington D. C., 1965. P. 499.
- 30) Huttunen J. K. y col.: Postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in normal subjects and in patients with hipertriglyceridemia. *Clin. Sci. Mol. Med.* 50:249, 1976.
- 31) Kashya M. L. y col.: Apolipoprotein C II and lipoprotein lipase in human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis* 35:29, 1980.
- 32) Kessler J. I. y col.: Lipoprotein lipase inhibition in the hiperlipemia of acute alcoholic pancreatitis. *New. Eng. J. Med.* 269:943, 1963.
- 33) Krauss R. M., Windmueller H. G., Levy R. I. y Fredrickson D. S.: Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat postheparin plasma. *J. Lipid Res.* 14:286, 1973.
- 34) Krauss R. M., Levy R. I. y Fredrickson D. S. Selective measurement of two lipase activities in post heparin plasma from normal subjects and patients with hiperlipoproteinemia *J. Clin. Invest.* 54:1.107, 1974.
- 35) Kuusi T., Enholm C., Nikkilä E. A.: Inmunochemical assay of rat post heparin plasma triacylglycerol lipases. *Atherosclerosis* 35:363, 1980.
- 36) Lambert D. y Col.: Correlation between the apoprotein C composition of VLDL and triglyceridemia in subjects with type IV hiperlipoproteinemia. *J. Lab. Clin. Med.* 97:834, 1981.
- 37) Larsson B. y col.: Adipocyte metabolism in endogenous hipertriglyceridemia. *Metabolism* 24:1.357, 1975.
- 38) Lewis B.: "The hiperlipidemias: Clinical and Laboratory Practice". Blackwell, Londres, 1977. P. 67.
- 39) Lithell H. y col.: Lipoprotein lipase activity in human skeletal muscle and adipose tissue in the fasting and fed states. *Atherosclerosis* 30:89, 1978.
- 40) Margolis S. y Capuzzi D.: Serum lipoprotein synthesis and metabolism. En "Blood Lipids and Lipoproteins: Quantitation, Composition and Metabolism". Ed. por G. J. Nelson. Wiley-Interscience, New York, 1972. P. 825.
- 41) Murase T. y col.: Inhibition of lipoprotein lipase by uremic plasma, a possible cause of hipertriglyceridemia. *Metabolism* 24:1.279, 1975.
- 42) Nikkilä E. A., Huttunen J. K. y Enholm C.: Low postheparin plasma hepatic lipase activity in familial type II hiperlipoproteinemia. *Ann. Clin. Res.* 8:63, 1976.
- 43) Nikkilä E. A., Huttunen J. K. y Enholm C.: Postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in diabetes mellitus: relationship to plasma triglyceride metabolism. *Diabetes* 26:11, 1977.
- 44) Nikkilä E. A., Taskinen M. R. y Kekki M.: Relation of high density lipoprotein cholesterol to lipoprotein lipase activity in adipose tissue and in skeletal muscle of man. *Atherosclerosis* 29:497, 1978.
- 45) Nikkilä E. A. y col.: Lipoprotein lipase activity of adipose tissue and skeletal muscle of runners. *Metabolism*. 27:1.161, 1978.
- 46) Persson B.: Lipoprotein lipase activity of human adipose tissue in different types of hiperlipoproteinemia. *Acta Med. Scand.* 193:447, 1973.
- 47) Pykälistö O. J., Smith P. H. y Brunzell J. D.: Determinants of human adipose tissue lipoprotein lipase. Effect of diabetes and obesity on basal and diet-induced activity. *J. Clin. Invest.* 56:1.108, 1975.
- 48) Redgrave T. G. y Snibson D. A.: Clearance of chylomicron triacylglycerol and cholesterylester from the plasma of streptozotocin-induced diabetic hipercholesterolemic hypothyroid rats. *Metabolism* 26:493, 1977.
- 49) Robinson C. W. y Furman R. H.: Lipoprotein lipase activity induced by in vitro sonic oscillation of serum from heparin resistant hiperlipemic subjects. *Clin. Res.* 9:145, 1961.
- 50) Robinson D. S.: The clearing factor lipase and its action on the transport of fatty acids between the blood and the tissues. En "Advances in Lipid Research" Ed. por R. Paoletti y D. Kritchevsky. Ac. Press, New York, 1963. P. 134.
- 51) Robinson D. S. y Wing D. R.: Regulation of adipose tissue clearing factor lipase activity. En "Adipose Tissue: Regulation and Metabolic Functions". Ed. por R. Levine y E. F. Pfeiffer. Ac. Press., New York, 1970 P. 41.
- 52) Taskinen M. R. y Nikkilä E. A.: Lipoprotein lipase of adipose tissue and of skeletal muscle in insulin deficient human diabetes. *Diabetologia* 17: 351, 1979.
- 53) Vogel W. C., Brunzell J. D., y Bierman E. L.: A comparison of triglyceride, monoglyceride and phospholipid substrates for post-heparin lipolytic activities from normal and hipertriglyceridemic subjects. *Lipids* 6:805-814, 1971.
- 54) Weld C. B.: Alimentary lipemia and heparin. *Can. Med. Ass. J.* 51:578, 1944.
- 55) Yamamura T. y col.: Familial type I hiperlipoproteinemia caused by apolipoprotein C II deficiency. *Atherosclerosis* 34:53, 1979.
- 56) Yii-Der Ida Chen y col.: Is the hipertriglyceridemia associated with insulin deficiency caused by decreased lipoprotein lipase activity?. *Diabetes* 28:893, 1979.
- 57) Zieve F. J. y Zieve L.: Postheparin phospholipase and postheparin lipase have different tissue origins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 47:1.480, 1972.