

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

ARXIU DE LA SECCIÓ DE CIÈNCIES, XLIII

AUGUST COROMINAS I VILARDELL

Doctor en Medicina
De la Societat Catalana de Biologia

CONTRIBUCIÓ A L'ESTUDI
BIOQUÍMIC DELS LÍPIDS:
LIPIDÚRIES

*PREMI ARNAU DE VILANOVA 1969
DE LA SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA*

BARCELONA

1970

**CONTRIBUCIÓ
A L'ESTUDI BIOQUÍMIC DELS LÍPIDS:
LIPIDÚRIES**

This One



3PGN-YX1-ELA8

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

ARXIUS DE LA SECCIÓ DE CIÈNCIES, XLIII

AUGUST COROMINAS I VILARDELL

Doctor en Medicina
De la Societat Catalana de Biologia

CONTRIBUCIÓ A L'ESTUDI
BIOQUÍMIC DELS LÍPIDS:
LIPIDÚRIES

*PREMI ARNAU DE VILANOVA 1969
DE LA SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA*

BARCELONA
1970

Dipòsit legal : B. 34.423 - 1970

És propietat de la SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

El Jurat format per a l'adjudicació del IV Premi Arnau de Vilanova, compost pels doctors Antoni Puigvert i Gorro, designat per la Secció de Ciències de l'Institut d'Estudis Catalans, Pere Domingo i Sanjuan, President de la Societat Catalana de Biologia, i Fèlix Fornells i Puig, designat per la Junta de Govern de la Societat, en reunió tinguda el dia 1^r d'abril de 1969 acordà per unanimitat de concedir el dit premi a la *Contribució a l'estudi bioquímic dels lípids: Lipidúries*, original del senyor August Corominas i Vilardell, Llicenciat en Medicina l'any 1964 per la Universitat de Barcelona.

A proposta de la Societat Catalana de Biologia, l'Institut d'Estudis Catalans, en sessió plenària tinguda el 27 de juny de 1969, prengué l'acord de publicar aquest treball.

**AL MEU MESTRE
PROF. MÀXIM SORIANO**

**A LA MEVA MULLER
MARIA-DOLORS**

INTRODUCCIÓ

1. OBJECTE DEL TREBALL

Aquest treball té per objecte:

a) Presentar unes tècniques (cromatografia i electroforesi) interessants i d'un gran avenir per a l'estudi dels lípids humorals i tissulars; *b)* enfocar l'estudi dels lípids orgànics des del punt de vista d'una de les vies d'eliminació, la urinària (lipidúries); *c)* presentar una revisió dels coneixements actuals referents al problema bioquímic dels lípids orgànics, en llurs aspectes fisiològics i patològics.

L'aplicació de les tècniques cromatogràfiques, sobre capa fina, i electroforètiques té un gran interès per a l'estudi dels lípids, per tal com amb elles hom aconsegueix d'una manera fàcil un coneixement suficient per al diagnòstic de les alteracions del metabolisme lipídic. Creiem que el retard que presenta l'estudi dels lípids en relació amb el de les proteïnes prové de la dificultat de les tècniques químiques emprades fins fa poc temps per a l'estudi d'aquells. Amb la cromatografia en capa fina (CCF), aquestes tècniques s'han simplificat extraordinàriament. Cal fer constar, això no obstant, que amb la CCF encara solament poden ésser obtingudes valoracions qualitatives o, a tot estirar, semiquantitatives, bé que han estat proposats una sèrie de mètodes per a mesurar la quantitat dels compostos separats en el cromatograma. Nosaltres només expressarem els nostres resultats d'una manera qualitativa o semiquantitativa.

En aquest treball presentem diverses separacions dels lípids:

1) Separació de lípids neutres, amb l'aïllament d'esters de colesterol, triglicèrids, colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids; 2) desenrotllament dels esters de colesterol, amb la separació dels esters saturats i no saturats d'un, dos i tres dobles enllaços; 3) desenvolupament de fosfolípids, amb la separació (en sèrum) de cefalina, lecitina, lisolecitina i esfingomielina, i en estrats cerebrals la separació de colesterol, àcids grassos lliures, cerebròsids, sulfàtids, esfingomielines i gangliòsids; 4) desenrotllament de triglicèrids, amb la separació de 5-6 compostos la identificació dels quals encara no hem aconseguit.

Pel fet d'ésser la CCF un mètode semiquantitatiu, creiem que cal expressar

gràficament els resultats amb la fotografia o la reproducció del cromatograma; és per això que el nombre de figures que presentem és de bon tros superior al que lògicament hom podria esperar-se. No obstant això, volem precisar que tan sols hem adjuntat les fotografies estrictament necessàries per a la comprensió del text o per a la demostració dels resultats.

Pel que fa a l'aspecte *b)*, és a dir, l'estudi dels lípids urinaris, que ha estat el *primum movens* d'aquest treball, aclarirem que només ha estat aconseguit parcialment, perquè hi ha pocs treballs relatius a l'estudi de les lipidúries i hem tingut enormes dificultats tècniques en l'obtenció d'extractes lipídics de l'orina. Ara: el fet de presentar una tècnica per a l'estudi dels lípids urinaris, amb les perspectives d'estudi i les possibilitats diagnòstiques que ofereix, ens sembla que té un gran interès. És possible que amb aquests mètodes l'estudi de les lipidúries pugui desenrotllar-se, com el de les proteïnúries, tema del qual ens hem ocupat en diverses ocasions.

Presentar una revisió completa dels coneixements actuals relatius a l'estudi bioquímic dels lípids, amb les nombrosíssimes publicacions que darrerament han aparegut, sobrepassaria els límits i la finalitat d'aquest treball. De tota manera, creiem que és fonamental la revisió dels conceptes bàsics d'aquest tema per tal de poder plantejar més correctament el problema de les lipidúries. Volem deixar assentat que és un resum de l'aspecte metabòlic, per la qual cosa molts conceptes de gran interès en l'actualitat com ara els lípids tissulars i els intercanvis hístico-plasmàtics d'àcids grassos, per exemple, solament seran esmentats per sobre.

El treball ha estat dividit en quatre capítols: en el primer oferim una revisió del problema bioquímic dels lípids, de llur metabolisme, llur localització a nivell de la membrana cel·lular, a nivell tissular, l'absorció i la circulació dels lípids al plasma.

Al segon capítol presentem les tècniques cromatogràfiques, electroforètiques, immunològiques i químiques que hem emprat en les nostres investigacions.

Al tercer capítol estudiem les alteracions del metabolisme lipídic a nivell sèric i tissular, amb un esment especial de les dislipèmies secundàries que observem en algunes nefropaties.

El quart capítol és dedicat a l'estudi de les lipidúries. Finalment, hi ha les conclusions obtingudes en aquest treball.

Ens cal agrair ací cordialment la valuosa col·laboració que les senyoretetes Maria Clarós i Miquela Abril ens han prestat per a la preparació del nostre treball.

2. BIOQUÍMICA DELS LÍPIDS

A) *Definició.* — Els lípids són un grup de principis immediats que posseeixen C, N, O i H, i, ocasionalment, S i P, agrupats perquè presenten les propietats comunes següents: *a)* insolubilitat a l'aigua; *b)* solubilitat a l'èter, al benzè, al cloroform, al tetraclorur de carboni...; *c)* en general, són esters d'àcids grassos superiors, amb distints alcohols. Poden ésser sòlids o líquids a 20° C, i s'anomenen,

respectivament, greixos o olis. Són un factor component important en la dieta, i tenen un poder calorífic considerable. Així mateix, en els mamífers, formen la substància de reserva. Alguns lípids complexos formen part de les complicades estructures del sistema nerviós. També, lligats amb les proteïnes, formen les membranes cel·lulars i de les mitòcondries.

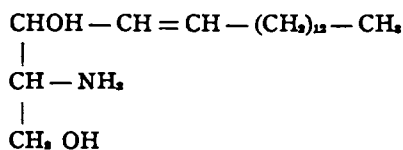
B) *Classificació*. — Han estat proposades nombroses classificacions dels lípids. La que ha tingut una més gran acceptació és la de BLOOR:

a) Lípids simples (homolípid), formats per un alcohol i un o més àcids grassos. Segons la funció alcohol, són anomenats *glicèrids* (mono-, di- o tri-, segons el nombre d'OH esterificats en la glicerina); *cèrids* (alcohol superior esterificat per un àcid gras amb el mateix nombre de carbonis); *estòlids*, formats per dues molècules d'àcid alcohol, esterificant la funció alcohol de l'una, l'àcid gras de l'altra, per la qual cosa es produeix una ciclació; i, finalment, els *estèrids*, que són esters dels esterols.

b) Lípids complexos o heterolípid, esters d'àcids grassos que, de més a més, tenen d'altres grups químics. Tenen una importància biològica extraordinària. S'anomenen: a) Fosfoglicèrids, si un dels OH de la glicerina és esterificat per l'àcid fosfòric. Un altre dels grups alcohol pot ésser o no esterificat per l'altre àcid. En el primer cas el compost resultant s'anomena àcid fosfatídic. S'anomenen *lecitines* els fosfoglicèrids resultants de l'esterificació d'un radical àcid del fosfòric amb la colina. Les lecitines naturals tenen gairebé sempre un àcid saturat, sovint l'estèaric, esterificant l'alcohol secundari del glicerol i un àcid etènic (oleic) esterificant la funció alcohol primària no esterificada per l'àcid fosfòric.

Les *cefalines* són semblants a les lecitines, però la colamina o la serina substitueixen la colina. Així mateix, en l'inositolfosfatíd, és l'inositol el substituït de la colina.

c) En els esfingolípid, entre l'alcohol i l'àcid gras hi ha un enllaç amídic, i n'és l'alcohol l'esfingosina.



Dins aquest grup distingirem les esfingomielines, en les quals, ultra llur funció amídica, hi ha un enllaç ester format per àcid fosfòric-colina, que esterifica l'alcohol primari de l'esfingosina. En la malaltia de Niemann-Pick s'acumula esfingomielina en òrgans diversos.

Els cerebròsids són semblants a l'esfingomielina, però és la galactosa, i no l'àcid fosfòric-colina, que es combina amb l'alcohol primari de l'esfingosina. Segons l'àcid gras que efectua la funció amídica, es distingeixen la cerasina (àc. ligno-

TAULA I

CLASSIFICACIÓ DELS LÍPIDS

Lípids simples	{	Glicèrids	
		Cèrids	
		Estòlids	
		Estèrids	
Lípids composts	{	Glicerolípid	Acid fosfatídic
			Inositol fosfàtid
		Cefalines	Fosfatidil col·lamín
		Lecitines	Fosfatidil serina
			Fosfatidil col·lina
	{	Esfingolípid	Esfingofosfolípids - esfingomielina
- cerebròsids			
		Glicolípid - gangliòsids	
		- sulfolípid	

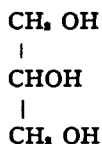
cèric), la frenosina (àc. cerebrònic), la nervona (àc. nervònic) i la hidroxinervona (àc. hidroxinervònic).

Els *gangliòsids* són compostos d'esfingosina, un àcid gras, àc. siàlic, hexosamina i hexosa. Augmenten d'una manera important al cervell en la malaltia de Tay-Sachs.

En els *sulfàtids*, una funció de la galactosa d'un cerebròsid és esterificada per l'àcid sulfúric. Hom pot posar-ne en relleu l'augment mitjançant cromatografia en capa fina en la leucodistrofia metacromàtica.

d) Derivats dels lípids. Són els compostos orgànics obtinguts per hidròlisi dels lípids. Interessa destacar, d'una banda, els alcohols, i, d'altra banda, els àcids grassos.

Alcohols. — El de més gran importància biològica és la glicerina (propanotriol).

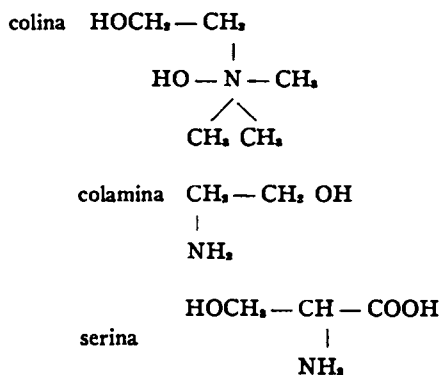


Amb dos grups alcohòlics primaris i un de secundari. És el constituent dels mono-, di- o triglicèrids, i també dels glicero-fosfolípids. Per deshidratació és produïda l'acroleïna, substància a la qual hom ha atribuït un cert paper en la patogènia d'algunes malalties autoimmunes.

Podem esmentar també els alcohols de les ceres, saturats, de cadena llarga: làuric (C_{12}), de la lanolina; mirístic (C_{14}) i araquílic (C_{20}), de ceres d'insectes; carnabílic (C_4), de la cera d'abelles. Un exemple de llur constitució, el tenim en l'alcohol cerílic.



Podem esmentar també els alcohols dels lípids compostos.



TAULA II

ÀCIDS GRASSOS SATURATS

Acètic	$\text{CH}_3 - \text{COOH}$	Fermentació acètica
Butíric	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)\text{COOH}$	Mantega
Caproïc	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{COOH}$	Mantega, oli de coco
Caprílic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_6 - \text{COOH}$	Mantega, greix de coco
Càpric	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_8 - \text{COOH}$	Mantega, greix de coco
Làuric	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{10} - \text{COOH}$	Greix làuric
Palmític	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$	Greixos animals i vegetals
Estearic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{18} - \text{COOH}$	Greixos animals
Lignocèric	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{22} - \text{COOH}$	Lípids complexos
Cerebrònic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{24} - \text{CH} - \text{COOH}$	Lípids complexos

ÀCIDS GRASSOS NO SATURATS

Oleic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	Greixos animals
Nervònic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{11} - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$	Lípids complexos
Linoleïc	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} =$ $= \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	Lípids complexos
Linolènic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} =$ $= \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	Lípids complexos
Oxinervònic	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{11} - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_6 - \text{CH} - \text{COOH}$	Lípids complexos
	 OH	

Àcids grassos. — S'anomenen àcids grassos els àcids carboxílics que formen part de les molècules lipídiques. En general, són de cadena lineal, llarga i habitualment amb un nombre parell d'àtoms de carboni. En alguns lípids hom pot trobar àcids grassos de cadena ramificada o ciclada, i també en d'altres funcions addicionals, a més a més del radical carboxílic. A la taula II podem observar una sèrie d'àcids grassos d'importància bioquímica (VILLAR PALASf).

La cadena de l'àcid gras pot ésser saturada o bé no saturada amb un doble enllaç o més d'un.

A l'organisme, hom els pot trobar combinats amb els lípids (esterificació o formació d'enllaços amídics), o bé en forma lliure. PEZOLD esmenta la proporció dels diversos àcids grassos que es combinen amb els lípids que formen les lipo-proteïnes.

Àcids grassos	Palmitic %	Esteàric %	Oleic %	Linoleic %	Araquidònic %
Glicèrids	31	—	38	16	—
Fosfolípids	34	14	11	21	10
Esters de colesterol	10	—	17	55	€

BLATON i col·l. (1965), mitjançant l'ús de tècniques electroforètiques i cromatogràfiques en capa fina i fase gasosa, estudien la composició dels àcids grassos del sèrum, tant en llur forma lliure com en l'esterificada, en l'individu adult normal, i troben els percentatges següents:

(12 : 0)	Àcid làuric	0,5 %
(14 : 0)	Àcid mirístic	2,6 %
(15 : 0)		1,0 %
(16 : 0)	Àcid palmitic	22,9 %
(16 : 1)	Àcid palmitoleic	5,6 %
(18 : 0)	Àcid esteàric	7,8 %
(18 : 1)	Àcid oleic	22,8 %
(18 : 2)	Àcid linoleic	31,3 %
(20 : 4)	Àcid araquidònic	5,2 %

Al sèrum hi ha un total de 200 a 400 mg d'àcids grassos: 30-60 mEq/l de lliures, i la resta, esterificats.

Les proporcions d'àcids grassos lliures al sèrum són les següents:

Àcid mirístic	1,5 %
Àcid miristoleic	0,5-1 %
Àcid palmitic	21-27 %
Àcid palmitoleic	2-10 %
Àcid esteàric	2-16 %
Àcid oleic	25-50 %
Àcid linoleic	5-20 %
Àcid linolènic	0,5-3 %
Àcid araquidònic	2-5 %

C) *Propietats físico-químiques dels lípids.* — La propietat físico-química més important dels lípids és la solubilitat. Els lípids són insolubles a l'aigua i solubles als dissolvents orgànics. Això, de tota manera, presenta certes excepcions, per tal com, d'una banda, la glicerina i alguns àcids orgànics són solubles a l'aigua, i, d'altra banda, no tots els lípids són solubles a tots els dissolvents orgànics; alguns ho són en acetona, d'altres no, però sí en èter, i, finalment, n'hi ha un tercer grup d'insolubles en èter. Aquest és precisament el mètode idoni per a separar mescles de lípids de distinta solubilitat en els dissolvents.

Les propietats físico-químiques dels glicèrids depenen fonamentalment dels àcids grassos que els constitueixen, i així els olis vegetals són líquids perquè posseeixen àcids dessaturats, mentre que els greixos animals són sòlids a la temperatura de l'ambient, a causa dels àcids grassos saturats, com el palmític o l'esteàric.

Per a l'estudi de les propietats físico-químiques d'un greix hom emprà una sèrie d'índexs:

Índex de iode. És expressat com el pes de IODE, en grams, fixat per 100 grams de lípids, en relació amb el nombre de dobles enllaços present a les molècules d'àcids grassos dels lípids.

L'índex d'acetilè està en relació amb les funcions lliures que hi pot haver presents a les cadenes d'àcids grassos.

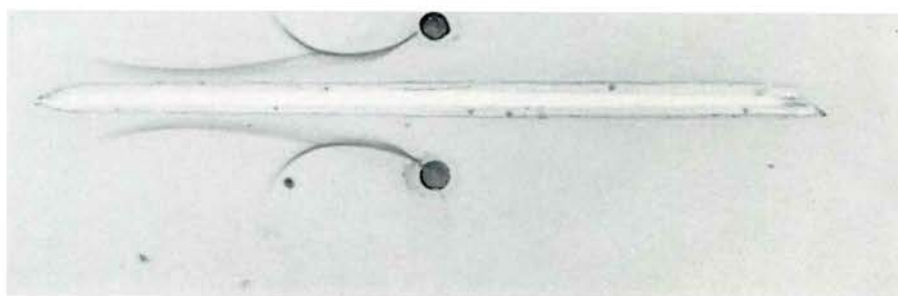
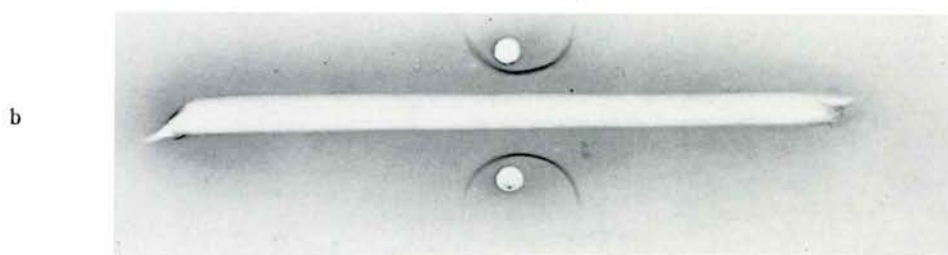
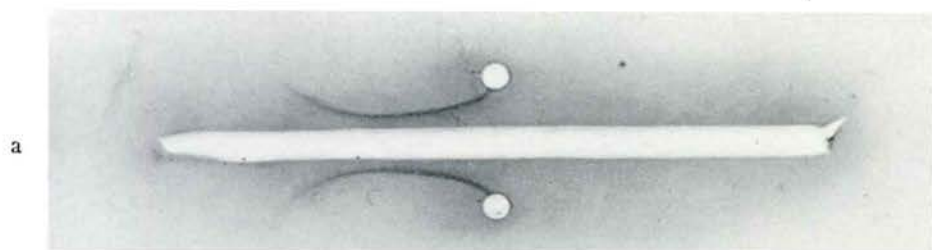
Tractant un greix amb solució alcohòlica d'hidròxid potàssic, escalfant i amb un refrigerant a reflux, s'alliberen els àcids grassos i, combinant-se amb l'àlcali, es formen sabons. L'índex de saponificació és més petit a mesura que és més gran el pes molecular dels àcids grassos. Proporciona, per tant, una indicació sobre la llargària mitjana de les cadenes integrants.

L'índex d'acidesa valora la proporció d'àcids grassos lliures d'una solució de lípids.

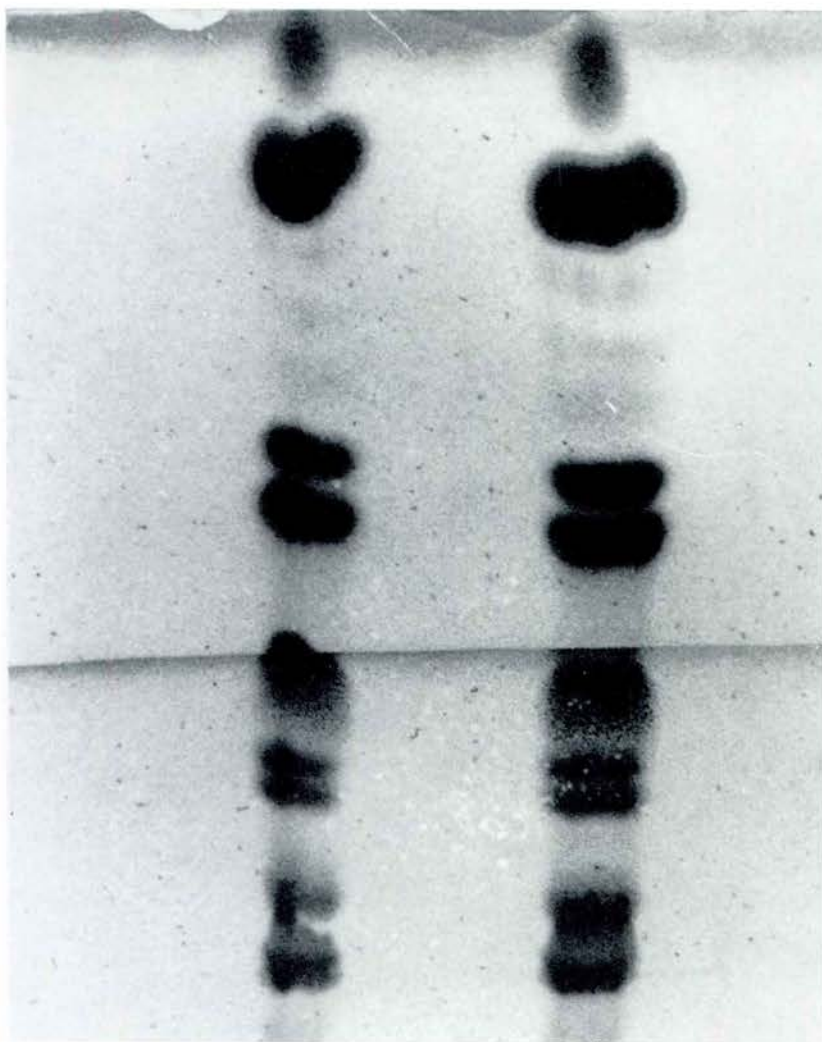
Tocant als problemes físico-químics dels lípids orgànics, interessa de precisar dos aspectes diferents: l'extracció total i fraccionada i, posteriorment, la hidròlisi i l'anàlisi dels constituents.

Els lípids es presenten en la matèria viva sota diverses formes; de vegades en forma lliure, com ara les inclusions de teixit adipós, però en la major part dels casos estan més o menys lligats a proteïnes i a glúcids, i constitueixen elements cel·lulars diversos (membranes, microsomes, mitocondries...). En aquests casos, llurs propietats de solubilitat són modificades. Així, per exemple, hom no aconsegueix d'extreure lípids en el sèrum amb dissolvents no polars o poc polars, com ara èter de petroli, èter etílic i cloroform, i, altrament, hom ho aconsegueix perfectament, si mescla aquest dissolvent amb un de polar, soluble a l'aigua, com, per exemple, el metanol o l'etanol. En general, per consegüent, per tal d'efectuar l'extracció dels lípids, convé de mesclar els dos tipus de dissolvents; els més usats són èter-etanol, o, millor encara, cloroform-metanol (2/1 o 1/1).

El primer pas que cal fer quan hom vol fer una extracció en teixit orgànic és la destrucció d'aquest teixit, que pot ésser portada a terme mitjançant un homogeneitzador, posant en contacte el teixit amb l'agent extractor (cloroform-



LÀM. I.—Immunolectroforesi. a) Ús de sèrum de conill anti- α -lipoproteïna humana. b) Sèrum de conill anti- β -lipoproteïna. c) Mescla d'anti- α - i β -lipoproteïnes. Suport a i b Rein agar tamponat, c) Agarosa tamponada



LĂM. 11. — Cromatograma d'un extracte lipidic cerebral. Desenrotllament: I) Cloroform-metanol-aigua.
II) Propanol-amoniac-aigua. Tintura, reactiu KĂGI-MISCHER.

metanol, 2:1) i destruint les estructures cel·lulars. Actualment, proporciona resultats molt bons l'ús del criostat, que provoca una deshidratació del teixit, i per mitjà de talls de 20 $m\mu$, hom col·loca el teixit damunt un portaobjectes; afegint-hi unes dècimes de ml de cloroform-metanol al damunt, és aconseguida una extracció bastant important. Aquest mètode, d'una gran importància clínica, l'empren els investigadors del grup de l'INSTITUT BUNGE (LÖWENTHAL i col·l·laboradors.), d'Anvers, per a l'estudi dels lípids cerebrals.

Aconseguida l'extracció amb uns dissolvents adients, quan hom és davant una mescla de lípids desconeguda, pot fraccionar-la, d'acord amb la seva solubilitat, cosa que permet l'agrupament dels lípids en tres grups:

Lípids solubles a l'acetona: glicèrids, estèrids, cèrids, àcids i alcohols grassos i esterols.

Lípids insolubles a l'acetona però solubles a l'èter, d'entre els quals podem distingir dos grups: els solubles a l'etanol (lecitina) i els insolubles a l'alcohol (cefalina, fosfatidilinositol, glicofosfàtids...).

Lípids insolubles a l'èter: les esfingomielines i els cerebròsids, que poden ésser separats per mitjà de l'àcid acètic glacial calent, amb el qual precipiten els cerebròsids i romanen en solució d'esfingomielines.

Un cop extrets i fraccionats els lípids d'un teixit biològic, interessa d'analitzar-los. Cal fer-ne, en primer lloc, la hidròlisi, amb l'objecte d'analitzar cada un dels components d'una fracció determinada.

Els hidrolitzats dels lípids es divideixen en tres grans grups:

Àcids grassos, solubles a l'aigua en medi alcalí; en medi àcid hi són insolubles, i hom els extreu amb èter.

La fracció anomenada insaponificable, que és insoluble a l'aigua en medi alcalí i soluble a l'èter etílic o èter de petroli, comprèn: alcohols grassos, aldehids, esterols i esfingosina.

Finalment, la fracció hidrosoluble, que comprèn glicerol, àcid fosfòric, colina, aminoetanol, glúcids, inositol i aminoàcids.

3. LIPOPROTEÏNES

Els lípids plasmàtics no són suficientment polars per a circular en forma lliure, i per això demanen la unió amb proteïnes; en resulten macromolècules anomenades genèricament lipoproteïnes.

Hi ha quatre tipus fonamentals de lipoproteïnes, que reben diversos noms, d'acord amb el mètode d'estudi (vegeu la taula III).

α -lipoproteïna — High density lipoprotein (HDL).

β -lipoproteïna — Low density lipoprotein (LDL).

Pre- β -lipoproteïna — Very low density lipoprotein.

Quilomicrons.

Aquests quatre grups fonamentals han estat demostrats per mitjà del concurs de tècniques com són ara precipitació salina, etanol, immunoprecipitació, electroforesi, ultracentrifugació i cromatografia (FREDRICKSON i col·l·laboradors., 1967).

TAULA III

(BRAGDSON, segons FREDRICKSON, 1963)

Fracció	Densitat	Sf	Colesterol		Fosfolip.	Glicèrid.	Proteïnes
			Lliure	Esterificat			
Quilomicrons	<1.006	>400	3,1	6,1	7,1	81,3	2,5
Lipo baixa D (pre- β)	1.019	12-400	6,0	16,2	17,9	51,9	7,1
Lipo baixa D (β -lipoproteïnes)	1.019/1.063	0-12	8,5	42,3	23,6	5,1	20,5
Lipo elevada densitat (α -lipoproteïnes)	1.063/1,21		2,3	18,5	26,9	4,6	47,7

La α -lipoproteïna té una mobilitat electroforètica sobre paper com les α_1 -globulines; és composta de 45 a 55 % de proteïna (anomenada apoproteïna A), 30 % de fosfolípids, 5 % de glicèrids i 18 % de colesterol. El seu pes molecular s'estima entre 165.000 i 400.000. Comparada amb la β -lipoproteïna, té, relativament, més colesterol esterificat i més fosfolípids.

Mitjançant la ultracentrifugació, hom ha aconseguit d'aïllar dues α -lipoproteïnes de distintes densitats, l'una amb una densitat 1.063 — 1,12, anomenada HDL₂ (també α LPA), i l'altra entre 1,12 i 1,21, anomenada HDL₃ (α LPB).

Les concentracions plasmàtiques d'aquests dos tipus de α -lipoproteïnes varien en certs trastorns metabòlics, i poden ésser determinades per la ultracentrifugació analítica.

Amb el plasma fresc hom aconsegueix solament de demostrar una forma immunològica de α -lipoproteïna. L'altra forma antigènica (α LPB), hom pot detectar-la després de la deslipidització del sèrum. Aquesta migra més lentament que no la α LPA (HDL₂), i probablement és un polímer més petit que aquesta; ambdues posseeixen la mateixa subunitat polipeptídica.

La β -lipoproteïna migra, damunt paper, com les β -globulines. Té una densitat que oscil·la entre 1.006 i 1.063, i un pes molecular que és estimat entre 1,3 i $3,2 \times 10^6$ (FREDRICKSON i col·l·lab.). En sec, la molècula de lipoproteïna conté un 20-25 % de proteïna (apoproteïna β), un 8 % de colesterol lliure, un 35 % de colesterol esterificat, un 22 % de fosfolípid i un 10 % de triglicèrid.

Mitjançant immunoelectroforesi hom aconsegueix, emprant sèrum anti- β -lipoproteïna, un immunoprecipitat, a la zona de dipòsit del sèrum (lám. I).

Les lipoproteïnes α i β se sintetitzen al fetge, cosa que ha estat demostrada administrant aminoàcids marcats C¹⁴ en la perfusió del fetge de la rata; hom hi ha observat β -lipoproteïnes de densitat 1.063. Ha estat provat que la síntesi té lloc als microsomes de les cèl·lules hepàtiques (FREDRICKSON i col·l·lab.).

La forma de transport dels triglicèrids en el plasma depèn de llur origen, segons que siguin procedents de la dieta grassa, cas en què es vehiculitzen per mitjà dels quilomicrons, o bé procedents de la síntesi endògena, i llavors són transportats per les pre- β -lipoproteïnes.

Les lipoproteïnes pre- β (Very low density) tenen un densitat entre 1.006 i 0,93. Migració electroforètica damunt paper entre α_2 i β . Els lípids representen el 85 % del pes total del complex lipoproteic i la proteïna (apoproteïna C, Pm. 834.000), 2-15 %. Els triglicèrids ocupen 60-80 %; el colesterol, 10-20 %, i els fosfolípids, 10-20 % del pes molecular lipídic total.

El mot quilomicro fou proposat l'any 1920 per a assenyalar les partícules visibles a la limfa i a la sang després de la ingestió d'un àpat gras. En el plasma, mitjançant electroforesi damunt paper, romanen a l'origen. Emprant gel de midó, migren amb α_2 (partícules primàries) o amb β (partícules secundàries).

Les proteïnes representen un 0,5-2,5 % del pes molecular. Entre els lípids, els glicèrids representen el 79-95 %, el colesterol el 2-12 %, i els fosfolípids el 3-15 % (vegeu la taula III).

4. RESUM METABÒLIC. LIPOGÈNESI. LIPÒLISI

En l'aspecte metabòlic interessa de precisar el paper fonamental que exerceix el teixit adipós en la regulació dels nivells lipídics sèrics. Els lípids són absorbits per via intestinal, i circulen parcialment, amb els quilomicrons (α_1 , β i pre- β), sintetitzats per la cèhula hepàtica, i finalment el teixit adipós participa en el *pool* dels àcids grassos lliures, que circulen en la sang units a l'albumina (fig. 1).

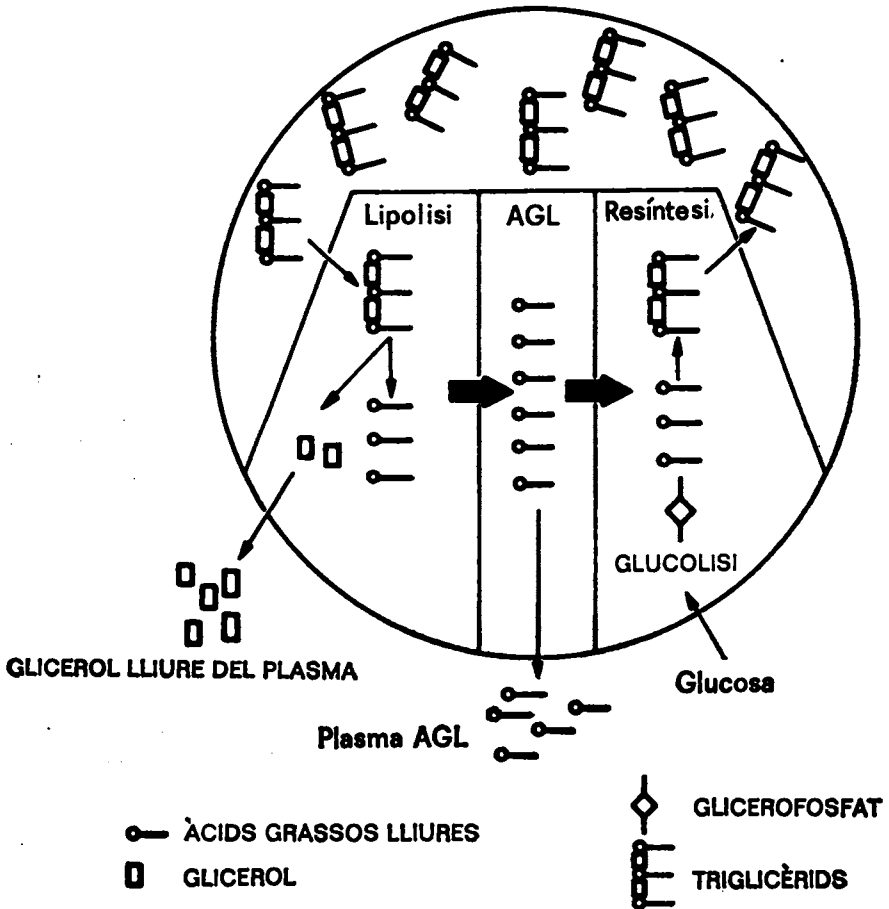


FIG. 1. — Resum metabòlic.

El teixit adipós constitueix el gran emmagatzematge de l'energia de l'organisme en forma grassa. Aquest emmagatzematge no és passiu, per tal com constantment se sintetitzen triglicèrids que es dipositen (lipogènesi) i, d'altra banda, a

partir dels glicèrids s'alliberen àcids grassos que són utilitzats com a font energètica (lipòlisi).

Les acumulacions de glicèrids es produeixen dins l'organisme en tres llocs principals, que són: el teixit conjuntiu subcutani, el teixit connectiu muscular i la cavitat abdominal.

Els àcids grassos lliures (AGL o NEFA dels autors anglosaxons) plasmàtics són en equilibri amb el *pool* d'AGL tissulars. Aquells augmenten per les reaccions de lipòlisi i minven en la resíntesi de lípids intracel·lulars (fig. 4).

La resíntesi de lípids cel·lulars depèn del perfecte funcionament del metabolisme glucídic, car el glicerol, que és esterificat pels AGL, procedeix del α -glicerofosfat general en la glicòlisi. El α -glicerofosfat, reaccionant amb àcids grassos (acil CoA), s'esterifica en forma de di- i triglicèrids cel·lulars (PEZOLD). Quan els mecanismes energètics funcionen correctament, els nivells d'AGL sèrics són baixos. Per contra, en la diabetis melítus, en la qual la formació de glicerofosfat és disminuïda, les possibilitats de la resíntesi d'A. G. en glicèrids disminueixen, i augmenten els nivells d'A. G. en plasma.

Els enzims del sistema lipolític són estimulats per la tiroxina, per catecolamines, per glucagon i per hormona somatotròpica, agents que augmenten el nivell d'AGL plasmàtics.

5. LÍPIDS CEL·LULARS

Els lípids tenen en l'organisme animal una importància biològica específica, d'acord amb llur composició química. Els glicèrids actuen com a dipòsits d'energia, i en algunes espècies aquàtiques, com a protecció contra el fred. La lecitina intervé en reaccions de metilació. Els fosfolípids i els cerebròsids es troben en el teixit nerviós com a components de la mielina. Pel que fa als esteroides, els àcids biliars emulsionen els lípids a l'intestí prim i en faciliten l'absorció per aquest. Les hormones esteroides participen en processos metabòlics fonamentals per a l'organisme. Així mateix, units a les proteïnes, formen la membrana cel·lular, la membrana de les mitocondries i d'altres òrgans cel·lulars (DE ROBERTIS).

Des del punt de vista citològic, alguns lípids són visibles al microscopi mitjançant la tintura d'àcid cròmic, o Sudan, per exemple, les gotes de greix de les cèl·lules adiposes, mentre que d'altres lípids són invisibles i formen, en unió amb les proteïnes, la base de les estructures cel·lulars.

La membrana cel·lular, que té com a missió la separació de la cèl·lula del seu medi ambient, és formada per lipoproteïnes. Això no obstant, es difícil d'imaginar l'enllaç entre grups lipòfils (com les cadenes d'àcids grassos) i grups hidròfils (com les cadenes polipeptídiques). DANIELLI exposa un model en què els grups hidròfils dels lípids (OH lliures de la lecitina) servien d'unió entre les cadenes lipòfiles dels àcids grassos dels triglicèrids i les cadenes hidròfiles dels pèptids. Al mateix temps, mitjançant enllaços de VAN DE WALS, les cadenes lipòfiles dels lípids es relacionen entre elles, per a contribuir a la formació de la cara "interna"

TAULA IV

COMPOSICIÓ DELS LÍPIDS EN TANT PER CENT DEL PES EN SEC

	Escorça lob. frontal (5 anys)	Substància blanca (5 anys)	Ronyó (infant de 2 mesos)	Melsa (infant de 2 mesos)
TOTAL LÍPIDS	28,0	59,2	9,4	8,8
Colesterol	5,6	15,6	1,3	1,8
Fosfolípids	21,2	28,1	7,5	6,6
Cefalines	8,5	15,2	3,6	2,8
Lecitines	9,6	8,9	2,6	2,7
Esfingomielines	1,7	4,8	1,2	1,2
Homoglicolípid	1,2	15,5	0,6	0,4
Cerebròsids	0,73	13,8	0,41	0,15
Sulfàtids	0,45	1,7	0,17	0,20

de la membrana, en la qual també els grups polars dels lípids s'uniran als grups polars de les proteïnes. La formació de porus en la membrana cel·lular s'efectuaria mitjançant grups polars de les cadenes peptídiques, i teòricament podrien existir porus aniónics o catiónics, segons que els grups lliures tinguessin càrrega positiva o negativa.

Una especialització de l'estructura lipoproteica de la membrana cel·lular és la beina de mielina que envolta l'àxon de la fibra nerviosa. Hom ha demostrat que les capes de lípids i de proteïnes es troben col·locades concèntricament. La microscòpia electrònica ha demostrat que es tracta d'una estructura multimembranosa; emprant dos grups de fixacions —tetròxid d'osmi, que sembla que es disposa en la fase lipoproteica, i formol-bicromat, coloració electrònica específica per als fosfolípids—, hom ha arribat a la conclusió que la beina de mielina és formada per capes bimoleculares de lípids orientats radicalment i amb capes alternades de proteïnes en disposició concèntrica (DE ROBERTIS). La composició lipídica es troba en la relació 2:2:1, per a fosfolípids, colesterol i cerebròsids.

Finalment, una altra disposició de les capes lipoproteiques, a nivell cel·lular, és la que es presenta en l'estructura dels cons i els bastons retinians la missió dels quals és la fotorecepció. Presenten una alternança de capes lipídiques i proteïques distintes de les de la beina de mielina.

6. LÍPIDS TISSULARS

A l'apartat anterior ja hem fet veure la importància dels lípids a nivell de les estructures membranoses cel·lulars. En aquest apartat interessa de remarcar la diferència que hom observa entre un teixit i un altre quan estudia els lípids després de llur extracció.

Hi ha una mena de "patró lipídic" per a cada teixit en relació amb la seva funció bioquímica. Mentre que al cervell hi ha una concentració de fosfolípids extraordinària, al teixit adipós predominen els triglicèrids. A la taula IV, presa de SVENNERHOLM, és demostrada la concentració de diversos lípids en substància grisa i blanca de lòbul frontal, al ronyó i a la melsa.

En algun teixit hi ha canvis qualitius i quantitius en relació amb l'edat, i així SVENNERHOLM, mitjançant tècniques cromatogràfiques en fase gasosa, estudia els àcids grassos d'esfingomielina cerebral i demostra que en el fetus i en la infantesa predominen els àcids C_{18} , i en augmentar l'edat aquests minven i augmenten els C_{24} ; mentre que en la substància grisa predominen els C_{18} , en les estructures de mielina dominen els C_{24} . Els gangliòsids fonamentalment citoplasmàtics tenen àcids C_{18} , mentre que els cerebròsids, que són típics de les membranes lipídiques, tenen àcids C_{24} . Partint d'aquestes observacions, proposa la hipòtesi que la síntesi dels àcids grassos té lloc a dos indrets distints: el citoplasma, on predominen els C_{18} , i les membranes cel·lulars, on predominen els C_{24} .

A la taula V expressem els resultats qualitius en forma d'encreuament d'uns cromatogrames en capa fina de diversos teixits, en els quals és clarament

TAULA V

COMPOSICIÓ LIPÍDICA QUALITATIVA DE DIVERSOS TEIXITS

	Est. Coolest.	Triglicèrids	Coolest. lliure	Ac. gras- sos ll.	Fosfolíp.
Cervell	±	±	++	+	+++
Ronyó	±	+++	+	++	+
Epiplon	±	+++	+	±	±
Fetge	+	+	+	++	++
Múscul	+	++	±	+	+
Rentat hematies	+	-	+	±	+
Sèrum	++	+	+	±	+

demostrada la diferència qualitativa entre un teixit i un altre, és a dir, el patró lipídic propi de cada teixit. A la lám. II i a la fig. 2 oferim uns cromatogrames de fosfolípids de diferents teixits.

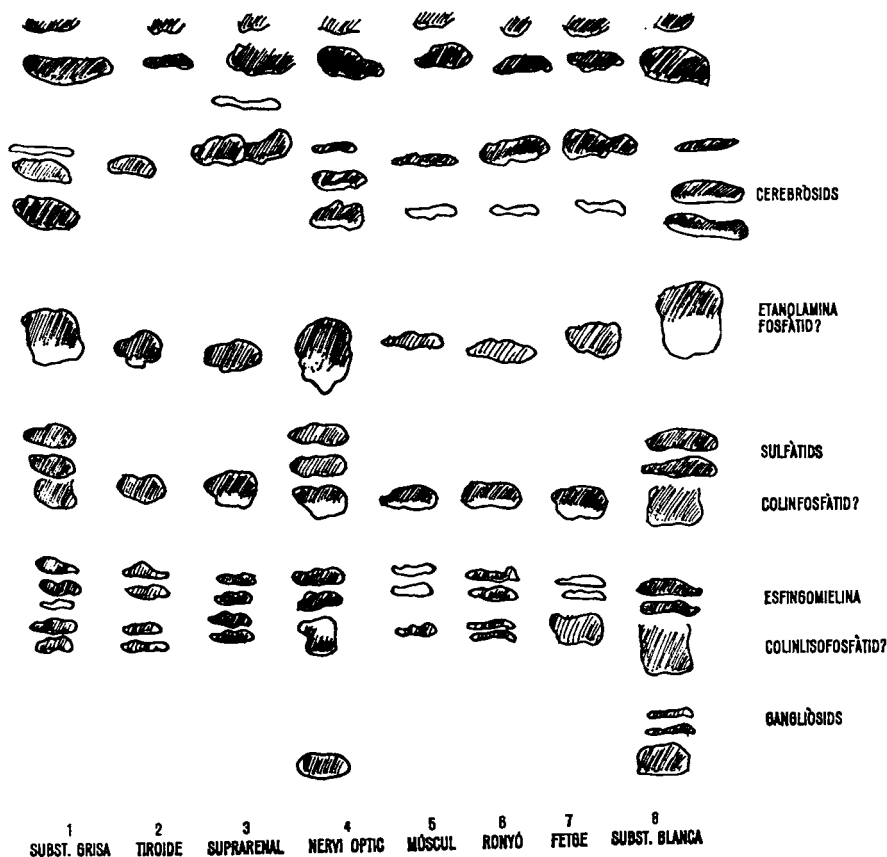


Fig. 2

En l'aspecte patològic, la cromatografia en capa fina té un gran interès en el diagnòstic de les lipoïdosis, i també en trastorns en els quals és alterat el patró lipídic tissular. En la leucodistrofia metacromàtica infantil són molt augmentats els sulfàtids de la substància blanca cerebral. En la malaltia de KRABBE existeix una marcada minva dels lípids especialment sulfàtids en la substància blanca. Així mateix, en la malaltia de TAY-SACHS hom observa un gangliòsid molt augmentat, i en la de NIEMANN-PICK, una esfingomielina. En la malaltia de REFSUM hom observa una acumulació d'un ester de colesterol (fitanat de colesterol), i en la de WOLMAN, una acumulació d'esters de colesterol i de triglicèrids al cervell i al fetge (GUAZZI i collabs.).

Estudiant els lípids neutres en teixits tumorals de SNC, mitjançant CCF, SMITH i WHITE (1968) observen un augment d'esters de colesterol en meningiomes, imatge normal en astrocitomes de grau 2, i augment de triglicèrids i d'esters de colesterol en glioblastomes i en carcinomes metastàsics. Així, doncs, la CCF pot arribar a ésser un altre mètode per a la diferenciació de tumors.

7. ABSORCIÓ INTESTINAL DELS LÍPIDS. LÍPIDS SÈRICS

La majoria dels greixos ingerits (fig. 3) són triglicèrids, i, secundàriament, fosfolípids i colesterol. Els triglicèrids són esterificats pels àcids palmític C_{18} i esteàric (C_{18}), i en menor proporció per l'oleic ($C_{18}:1$) i el linoleic ($C_{18}:2$).

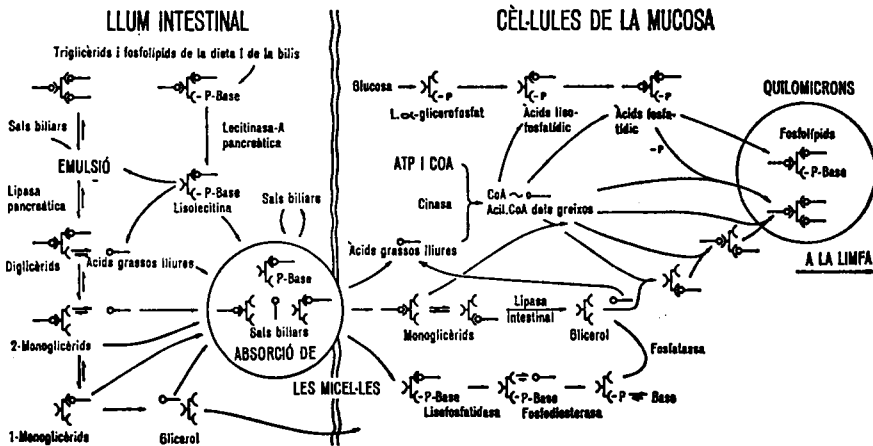


FIG. 3. — Absorció intestinal dels lípids. (Segons DAVENPORT.)

A l'estómac no hi ha, pràcticament, digestió dels lípids, per la qual cosa la majoria d'aquests passen al duodè sense sofrir cap procés. Allí té efecte, en primer lloc, l'emulsió, els components inicials més importants de la qual són els triglicèrids, els àcids grassos i les sals biliars.

L'emulsió prepara els greixos per a la hidròlisi, que té lloc en dues fases: a la llum de l'intestí per l'acció de la lipasa pancreàtica, i a les cèl·lules de la mucosa per la lipasa intestinal. La lipasa pancreàtica, que ataca els greixos emulsionats a la llum de l'intestí, és una esterasa, específica de grup, que hidrolitza els triglicèrids fins a formar àcids grassos i 2-monoglicèrids; aquests, bé que no són atacats per la lipasa, poden transformar-se fàcilment en 1- o 3-monoglicèrids, puix que l'enllaç ester és de baix nivell energètic (DAVENPORT).

La hidròlisi dels 2-monoglicèrids pot tenir lloc dins les cèl·lules de la mucosa, que als microsomes contenen una lipasa que hidrolitza, de més a més, els triglicèrids de cadena curta.

Al pàncreas es produeix, a més, una lecitinasa A que actua damunt els fosfolípids ingerits i que produeix lisolecitina, que és absorbida.

A mesura que progressa la hidròlisi, els monoglicèrids i els àcids grassos lliures formen una solució micel·lar amb sals biliars. Les micelles, pel sol fet d'ésser liposolubles, poden penetrar a la fase lipídica de la membrana cel·lular (fig. 3).

A l'interior de les cèl·lules de la mucosa, els monoglicèrids són hidrolitzats per la lipasa intestinal i formen àcids grassos lliures i glicerina.

A la cèl·lula de la mucosa intestinal, els productes de la digestió grassa absorbits, com ara glicerol, àcids grassos lliures i lisolecitina, sofreixen processos metabòlics de resíntesi i nombrosos intercanvis entre ells, catalitzats per enzims situats als microsomes del reticle endoplasmàtic, i així es produeixen nous triglicèrids i fosfolípids que, travessant la cèl·lula per l'esmentat reticle, es conglomeren en gotetes anomenades quilomicrons, de 0,1 a 3,5 μ de diàmetre, que circulen per la limfa. Aquests quilomicrons (DAVENPORT) contenen un 89-93 % de triglicèrids, un 5-9 % de fosfolípids, un 0,7-1,5 % de colesterol, un 1,7 % d'àcids grassos lliures i un 0,5 % de proteïnes.

La majoria d'àcids grassos de cadena curta i de cadena mitjana, i una part del colesterol, són desviats a la sang de la vena porta.

Els quilomicrons, anomenats també partícules exògenes, van als limfàtics, intestinals i, posteriorment, al conducte toràcic. Són hidrolitzats a les cèl·lules del teixit adipós, al fetge, al cor i a d'altres òrgans, i els àcids grassos intervindran a la resíntesi d'altres esters a l'interior de la cèl·lula.

En el plasma humà, a més a més dels triglicèrids de procedència alimentària (partícules exògenes), n'hi ha d'altres de sintetitzats, principalment, al fetge, i aquest fet és demostrable per tal com en un individu dejú hom pot trobar concentracions de triglicèrids que oscil·len entre 10 i 150 mg per 100 ml. De la mateixa manera que els triglicèrids de procedència exògena van lligats als quilomicrons, els sintetitzats a la cèl·lula hepàtica van vehiculitzats en la fracció prebetalipoproteïna. Les "partícules endògenes" difereixen dels quilomicrons, no solament en l'origen i en les propietats físiques, sinó també perquè posseeixen un contingut distint de colesterol, fosfolípids i triglicèrids (FREDRICKSON i col·laboradors, 1967).

Usualment són absorbits cada dia de 100 a 500 mg de colesterol de procedència alimentària, i cal afegir-hi un altre gram d'esterols reabsorbits a la llum intestinal, procedents de la secreció biliar. Tant el colesterol exogen com l'endogen són habitualment transportats de teixit a teixit en forma de α - i β -lipoproteïnes. Hi ha un ràpid intercanvi de colesterol lliure entre els transports i els teixits, especialment entre plasma, fetge i hematies.

Quant als fosfolípids, els més importants al sèrum són la fosfatidilcolina i l'esfingomielina. Aquestes molècules tenen el transport específic d'àcids grassos entre teixits.

Els àcids grassos lliures, les concentracions plasmàtiques dels quals oscil·len entre 0,3 i 0,7 mEq/l de plasma, van lligats a l'albúmina. Són una pedra fonamental en el dinàmic metabolisme lipídic i procedeixen del teixit adipós subcu-

TAULA VI a

LÍPIDS DEL SÈRUM

(Segons FREDRICKSON, 1961)

Colesterol	(esterificat 70-75 %)	150-240 mg %												
Fosfolípids	<table border="0" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Lecitina 70 %</td> <td rowspan="5" style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td rowspan="5" style="vertical-align: middle;">10 %</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Esfingomielina 20 %</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Lisolecitina</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Cefalina</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Fosfàtids d'inositol</td> </tr> </table>	}	Lecitina 70 %	}	10 %	}	Esfingomielina 20 %	}	Lisolecitina	}	Cefalina	}	Fosfàtids d'inositol	150-250 mg %
}	Lecitina 70 %	}	10 %												
}	Esfingomielina 20 %														
}	Lisolecitina														
}	Cefalina														
}	Fosfàtids d'inositol														
Glicèrids		50-125 mg %												
Cerebròsids		3-5 mg %												
Carotinoides totals		0,1-0,2 mg %												
Àcids grassos no esterificats		3-30 mg %												
Àcids grassos totals	<table border="0" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Est. colesterol 20 %</td> <td rowspan="4" style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Fosfolípids 50 %</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Glicèrids 25 %</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td>Àcids grassos lliures 5 %</td> </tr> </table>	}	Est. colesterol 20 %	}	}	Fosfolípids 50 %	}	Glicèrids 25 %	}	Àcids grassos lliures 5 %	200-400 mg %			
}	Est. colesterol 20 %	}													
}	Fosfolípids 50 %														
}	Glicèrids 25 %														
}	Àcids grassos lliures 5 %														

TAULA VIb

COMPARACIÓ DE LES LIPOPROTEÏNES DEL PLASMA NORMAL

(Segons ONCLEY)

Lipoproteïnes	Concentració mg/100 ml		Percentatges de proteïnes del plasma	
	Mascles	Femelles	Mascles	Femelles
Quilomicrons (dens. 0,94)	30,0	30,0	0,4	0,4
β -lipoprot. (0,98)	150,0	80,0	2,1	1,1
β -lipoprot. (1,03)	360,0	330,0	5,2	4,7
α -lipoprot. (1,12)	260,0	330,0	3,7	4,7
D'altres lipoprot.	80,0	70,0	1,1	1,0
Total lipoprot.	880,0	840,0	12,5	11,9

TAULA VI c

VARIACIÓ DELS LÍPIDS I DE LES LIPOPROTEÏNES DEL PLASMA D'ACORD AMB L'EDAT

(Segons FREDRICKSON i col·labs., 1967)

Edat	Colesterol total	Triglicèrids	Pre-beta colester.	Beta colester.	Alfa colesterol	
					Femelles	Mascles
0-19	120-230	10-140	5-25	50-170	30-65	30-70
20-29	120-240	10-140	5-25	60-170	35-70	35-75
30-39	140-270	10-150	5-35	70-190	30-65	35-80
40-49	150-310	10-160	5-35	80-190	30-65	40-85
50-59	160-330	10-190	10-40	80-120	30-65	35-85

tani; a la figura 4 podem veure, esquematitzades, les procedències de quilomicrons (via intestinal), lipoproteïnes (cèl·lules hepàtiques) i àcids grassos lliures (cèl·lula adiposa).

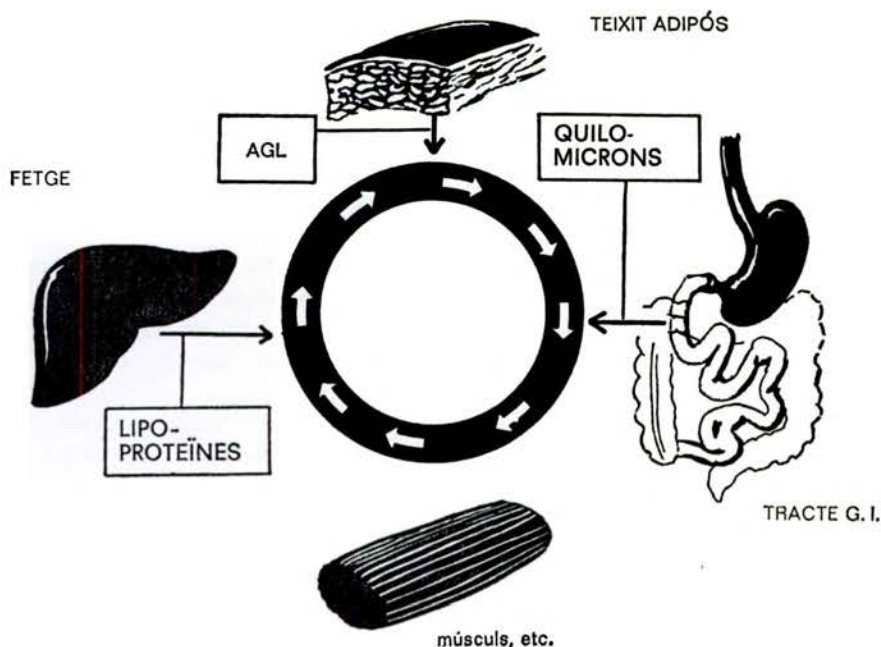


FIG. 4. — Origen dels lípids sèrics. (BOBERG I CARLSON.)

Com a resum d'aquest apartat, a la taula VIa representem els valors normals de les diverses fraccions lipídiques del sèrum, i exposem a continuació una sinopsi de la manera com van vehiculitzades. (Segons PEZOLD.)

Manera	Nom	Procedència
Emulsió	Quilomicrons	Exògena
Complex macromolecular	Lipoproteïnes α_1 , β - i pre- β	Endògena
Lligat a l'albumina	Àcids grassos lliures	Endògena

8. RESUM. IMPORTÀNCIA BIOLÒGICA DELS LÍPIDS

Els lípids tenen una gran importància biològica. Formen, juntament amb els glúcids i els pròtids, la tríade bioquímica dels principis immediats.

Els lípids són àmpliament difosos a la natura, tant al regne vegetal com a l'animal. Recordem ara que moltes llavors són formades per lípids, i que també moltes plantes produeixen lípids d'importància en l'alimentació humana, com, per exemple, els olis de cacau, de coco, d'oliva, de gira-sol, etcètera.

Al regne animal els lípids són també àmpliament difosos; a nivell cel·lular tenen interès en la formació de les membranes lipoproteiques, i a nivell tissular, en els animals homeotermes, són importants perquè formen una capa aïllant del medi ambient, que és especialment important en els mamífers aquàtics.

Els lípids tenen, a més, una gran importància en l'alimentació, perquè són una font d'energia (1 g de greix produeix 9,4 calories); alguns lípids, encara, són indispensables perquè l'organisme humà no els pot sintetitzar: són els àcids grassos "essencials", com ara el linoleic, el linolènic, l'araquidònic.

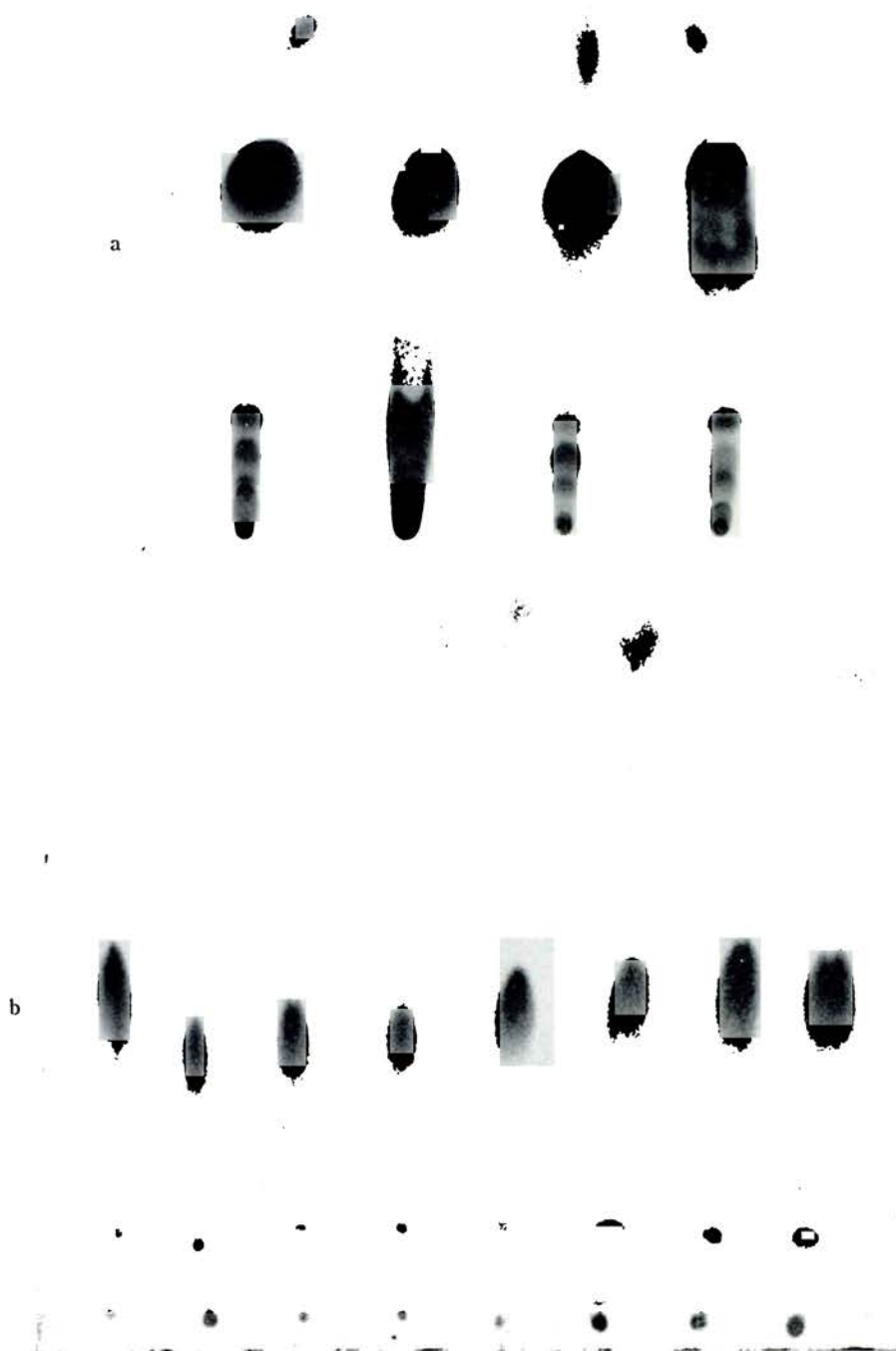
A la lám. III presentem uns cromatogrames de lípids de diversos aliments; a la figura superior podem observar els lípids de la mantega de cacau i de porc, i els de la llet de dona i de vaca. En tots destaca una gran zona de triglicèrids, però a penes tenen esters de colesterol. Contràriament, hi són presents el colesterol lliure, els àcids grassos lliures i els fosfolípids.

A la figura inferior observem els cromatogrames dels extractes lipídics de múscul de bou i de vedella, de porc i de be, emprant les concentracions de 2 i 5 λ d'extracte. Hi observem fonamentalment triglicèrids (lleugerament superiors en el be). Secundàriament, hi podem observar colesterol lliure i fosfolípids, i també indicis de colesterol esterificat.

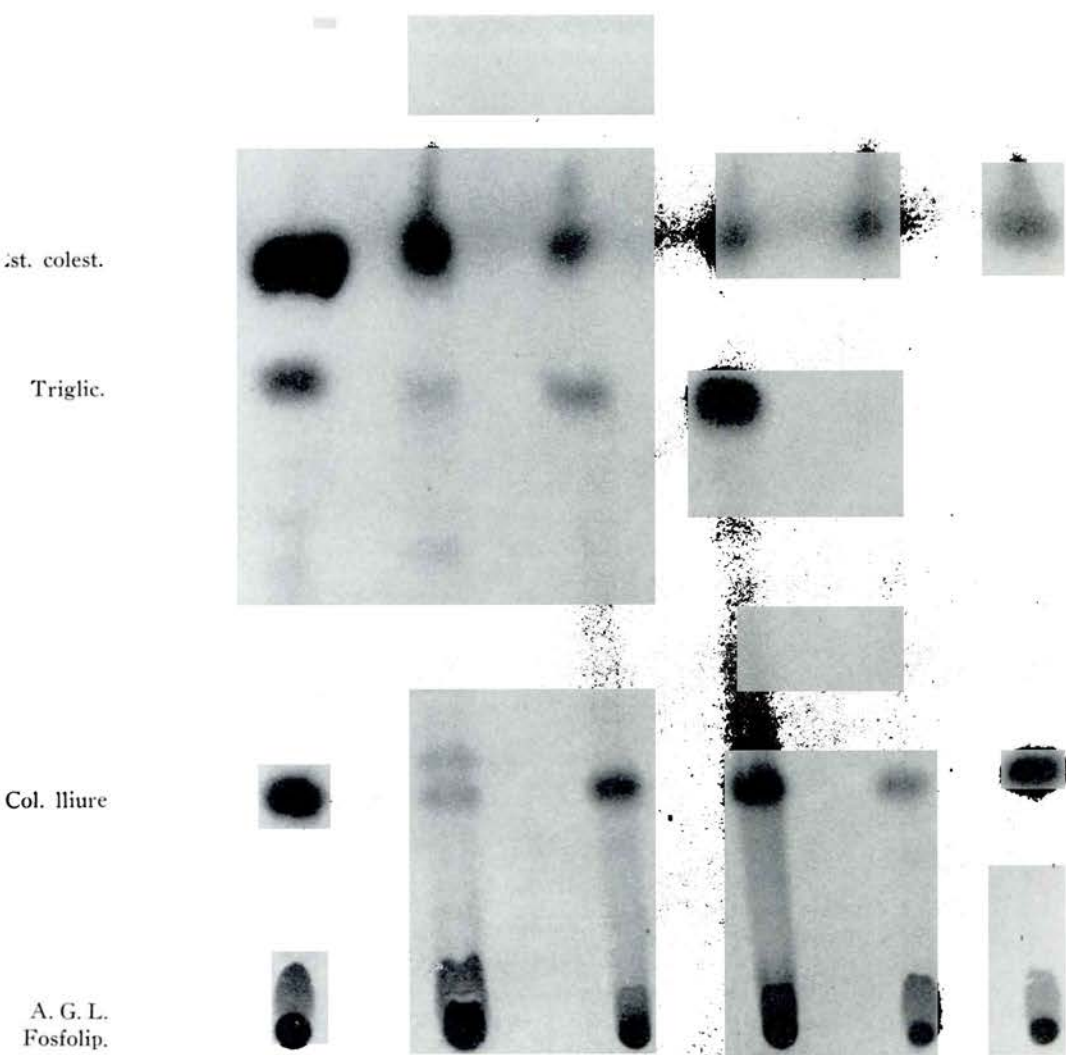
Amb aquests exemples volem palesar la importància de la cromatografia en capa fina per a l'estudi qualitatiu dels lípids de l'alimentació.

En l'organisme humà, el normal funcionament dels mecanismes reguladors del metabolisme lipídic és fonamental. La seva alteració ocasiona una sèrie de malalties, entre les quals esmentarem:

- a) Dèficit de lipoproteïnes; abetalipoproteïnèmia (malaltia de **BASSEN-KORNZWEIG**) i dèficit de α -lipoproteïna (malaltia de **TANGIER**).
- b) Hiperlipèmia definida com una acumulació de lípids al plasma; poden ésser primàries o hereditàries, com la hiperlipèmia familiar essencial, o la hipercolesterinèmia familiar; o bé secundàries, com els signes d'altres trastorns, com les hiperlipèmia de síndrome nefròtica, diabetis, icterícia obstructiva...
- c) Hom anomena lipídosi l'atenuació de lípids diversos en els teixits. Esmentarem la malaltia de **TAY-SACHS** (gangliòsid), leucodistrofia metacromàtica (sulfàtids), **NIEMANN-PICK** (esfingomielina), **GAUCHER** (cerebròsids), **REFSUM** (fitanat de colesterol), **WOLMAN** (esters de colesterol i triglicèrids)... Sobre totes aquestes malalties, hi insistirem més endavant.



LÀM. III. — Cromatogrames lipídics de diversos aliments. *a)* Mantega de cacau i de porc, de llet de dona i de vaca. *b)* Extractes de carn de bou, de vedella, de porc i de be, emprant 2λ (esquerra) i 5λ (dreta).



LÀM. IV. — Separació de lipids de diversos líquids orgànics. D'esquerra a dreta, sèrum, oïna, saliva, bilis, suc gàstric i semen.
Capa fina, silicagel G. Solvents, cloroform-benzè, Tintura ac. fosfomolibdic.

II

MATERIAL I MÈTODES

A) MÈTODES CROMATOGRÀFICS

1) *Preparació de la capa fina.* — Hom introdueix en un flascó d'Erlemeyer 50 grams de silicagel G (Merck), i s'hi afegeixen 100 ml d'aigua destil·lada. Cal agitar-ho durant dos minuts i mig exactament per tal d'obtenir condicions idèntiques en tots els experiments. Aquesta mescla és abocada a la cambra d'un extensor Desaga, que la diposita damunt cinc plaques de vidre (netejaes molt escrupolosament amb aigua i alcohol) de 20×20 , recolzades damunt un suport especial per a aquest mètode. Hi ha un aparell, Stratomat, que fa les plaques d'una manera automàtica.

Poden ésser emprats d'altres tipus de capa fina, com ara la poliamida o el silicagel de composició diversa: H, GF₂₅₄, HF₂₅₄, silanitzat... (vegeu taula VII).

Per a la cromatografia en fase invertida, si usem el nitrat d'argent en lloc de barrejar el silicagel amb aigua, hom el mescla amb una solució aquosa de nitrat d'argent al 12,5 %. Convé, en aquest cas, d'operar ràpidament i de guardar les plaques a l'abric de la llum. Així mateix, convé de netejar ràpidament l'extensor.

La impregnació amb undecà, cal fer-la després de preparada la placa com és habitual. Hom submergeix durant mig minut la placa de silicagel en un recipient que conté una solució d'undecà al 5 % en èter de petroli, i es deixa, a continuació, que l'èter de petroli s'evapori.

Les plaques preparades han d'ésser "activades", és a dir deshidratades; amb aquest fi, hom les introdueix en una estufa de dessecació a 130° durant 30'. Si aquestes plaques no són emprades al cap de poca estona d'ésser activades i refredades, cal introduir-les en un recipient que contingui un absorbent de la humitat ambiental (silicagel blau).

Poden ésser usades així mateix plaques preparades o làmines d'alumini damunt les quals hagi estat dipositat el silicagel (cromatoplaques o cromatofolis).

2) *Preparació dels extractes lipídics.* — a) Sèrum. — Hom aboca 2 ml de sèrum en un matràs aforat de 50 ml, amb 32 ml de cloroform-metanol (1-1), i es deixa fins que bulli uns instants. Es deixa refredar a la temperatura de l'am-

TAULA VII

TIPUS D'ADSORBENTS

Nom comercial	Natura
Anasil	Silicagel - òxid de magnesi
Silicagel Woelm	Silicagel pura
Silicagel G	Silicagel amb guix
Silicagel H	Silicagel pura
Silicagel HF	Silicagel pura amb compost fluorescent
Silicagel GF	Silicagel amb guix, amb un compost fluorescent
Aluminium oxide D. O.	Òxid d'alumini pur
Alumina Woelm neutral	Òxid d'alumini pur neutre
Alumina Woelm acidic	Òxid d'alumini àcid
Òxid d'alumini G	Òxid d'alumini amb guix
Kieselgur G	Terra diatomeas amb guix
Cel·lulosa Powder MN 300	Pols de cel·lulosa purs
Cel·lulosa Powder MN 300 DEAE	Dietilaminoetil cel·lulosa
Polyamide Woelm	Poliàmida pura en pols
"Hostalen S"	Polietilè en pols
"Florisil"	Silicat magnèsic activat
"Sephadex"	Polímer del dextrà
"Perlon"	Policaprolactama
"Dowex" 1 i 50	Canviadors d'anions i de cations.

bient i es dilueix a 50 ml amb cloroform. Es filtra i s'agita en un embut de separació amb 15 ml d'aigua destil·lada. Es deixa en repòs durant algunes hores: Se'n separen 25 ml de la capa inferior (clorofòrmica), que conté els lípids. S'evapora a sequedat amb Rotavapor (BUCHI) i es redissol en 0,5 ml de cloroform. Hom aplica 10-30 λ a la placa. Aquest mètode l'hem fet servir també per a d'altres líquids orgànics, com, per exemple, la saliva, el suc gàstric, el semen, etc., augmentant la concentració de la solució lipídica a la placa cromatogràfica.

b) *O r i n a*. — L'extracció dels lípids urinaris presenta nombrosos problemes. Nosaltres hem estudiat diversos mètodes per a assolir la màxima extracció.

α) Mètode idèntic al del sèrum, augmentant les quantitats d'orina: a 32 cc d'orina filtrada, són afegits 30 cc de cloroform-metanol (1-1). Tot això és col·locat dins el matràs del Rotavapor. Hom dilueix l'extracte amb 50 cc de cloroform. Es filtren i s'hi afegeixen 15 cc d'aigua destil·lada. S'agita. Es deixa en repòs durant una hora. Hom agafa 25 ml de solució clorofòrmica i en fa un nou extracte amb el Rotavapor, el qual es dilueix amb 0,5 cc de cloroform. Dipositem a la placa 60 λ de l'extracte dissolt. Són visualitzats pocs lípids.

β) Concentració prèvia de l'orina. Emprem el matràs "aranya" del Rotavapor, a cadascun dels cinc balons del qual aboquem 25 cc d'orina (25 \times 5). Els escalfem al bany maria fins a 60° C, i al final n'obtidrem 5 cc d'orina concentrada. A aquests 5 cc, afegim 30 ml de cloroform-metanol i actuem com en el mètode anterior. Dipositem 60 λ de l'extracte final. Amb aquest mètode són obtinguts resultats millors que amb l'anterior.

γ) Ús d'un extractor líquid-líquid (POWELL, model 636/4). Al cos extractor són col·locats 100 cc d'orina filtrada, i en un matràs 200 cc de cloroform. El cloroform és fet bullir per mitjà d'una placa calefactora blindada durant 5-6 hores. Al final, l'extracte clorofòrmic s'evapora a sequedat amb Rotavapor, i el residu es dilueix amb 0,5 ml de cloroform.

δ) Extracció amb embut de decantació. Hem assajat l'extracció amb embut de decantació utilitzant diversos solvents:

- 50 cc orina — 50 èter de petroli
- 50 cc orina — 50 èter etílic
- 50 cc orina — 50 cloroform.

La capa del solvent, després de l'agitació i d'unes hores de repòs, s'evapora a sequedat, i hom dilueix l'extracte amb 0,5 ml del solvent emprat en cada extracció. Dels tres solvents, el cloroform és el que ha donat el resultat millor (després de la cromatografia), i el segueix l'èter de petroli, i, finalment, l'èter etílic.

ϵ) Extracció dels lípids urinaris segons el mètode de LAUDAT (1968). Hom introdueix en un tub d'hemodiàlisi 250 ml d'orina filtrada, i es dialitza a 4° C contra aigua destil·lada durant vint-i-quatre hores. L'extracció és feta en un matràs de 1.000 ml, amb mescla cloroform-metanol (2:1, vv), amb el Rotavapor.

Una primera extracció d'una hora és feta amb una quantitat dissolvent doble de la del volum urinari.

La segona extracció d'una hora és feta amb una quantitat de solvent idèntica a la del volum urinari.

Després de la decantació, l'extracte orgànic recollit s'evapora a sequedat i es redissol amb 2 cc de cloroform-metanol. Aquest és el mètode amb què hem obtingut més bons resultats.

c) **Extractes fecals**—Per als extractes lipídics de femta hem emprat l'aparell SOXHLET. Una quantitat coneguda d'excrement és dipositada al cos de l'extractor. Colloquem al matràs d'extracció 200 cc de cloroform i, mitjançant una placa calefactora blindada, escalfem el cloroform fins a l'ebullició. El procés és mantingut durant 4-6 hores. Posteriorment, l'extracte clorofòrmic s'evapora a sequedat. Cal posar a la placa 2 i 5 λ del residu, redissolt en 0,5 cc de cloroform.

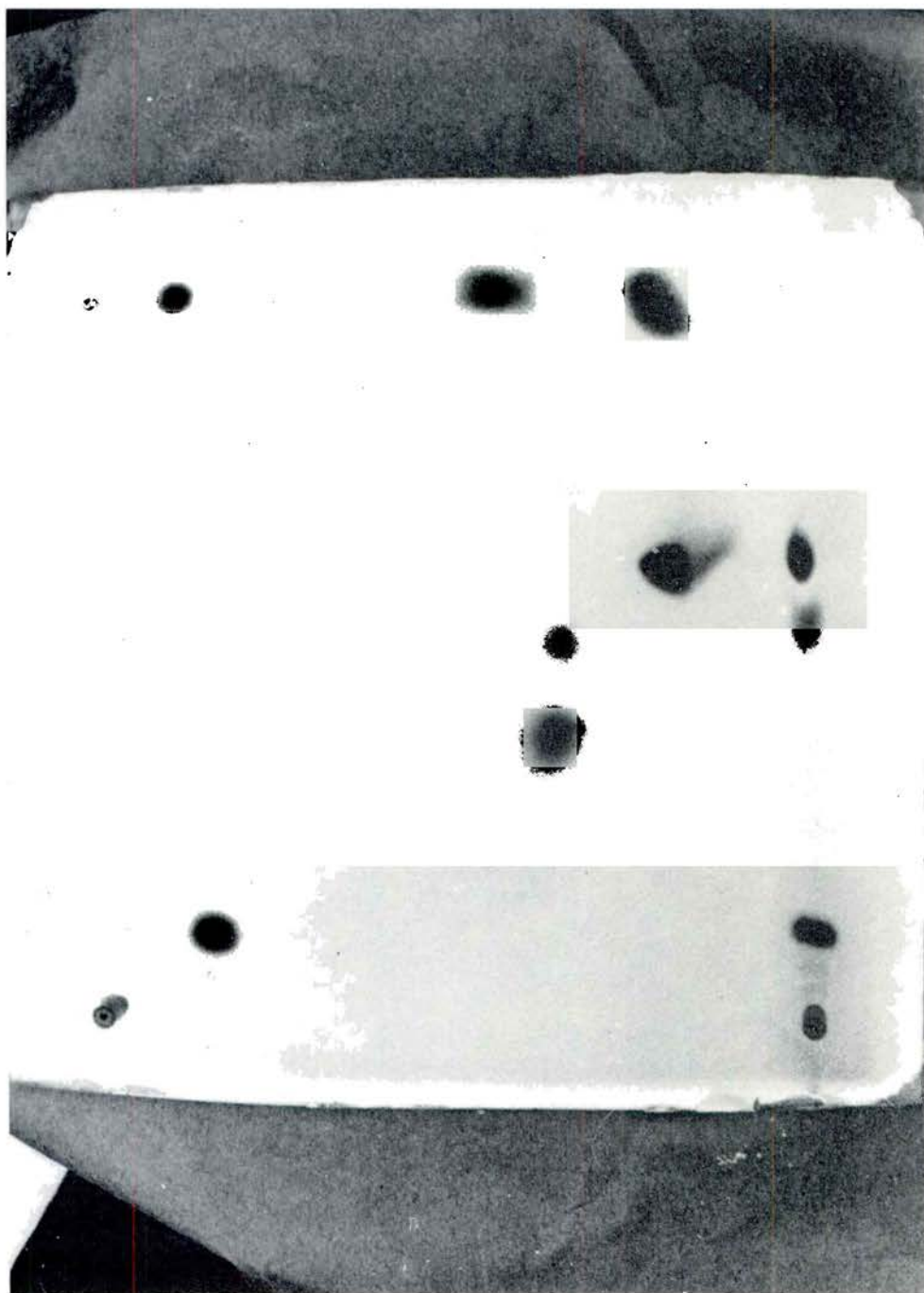
A títol comparatiu, hem dut a terme també cromatografies d'extractes eteris obtinguts per mitjà del mètode de VAN KAMER.

d) **Extractes tissulars:**

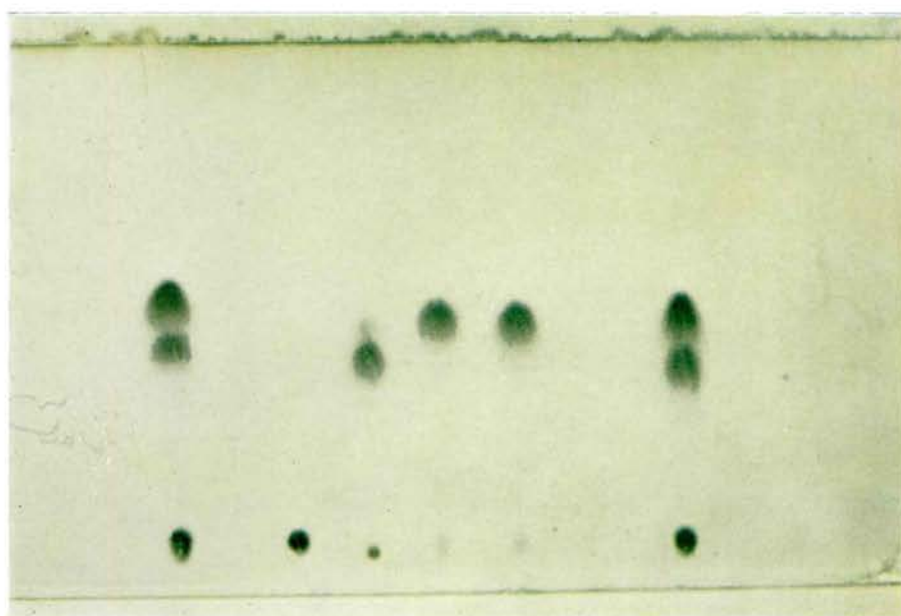
α) **Extracció, amb l'aparell de SOXHLET, de quantitats conegudes de teixit, procedents de necròpsies.** Són tallades en petits trossos per mitjà d'un bisturi, i disposades al cos de l'extractor del SOXHLET; al matràs inferior hom aboca 100 cc de cloroform-metanol, que es fan bullir mitjançant una placa calefactora blindada. El procés de l'extracció dura 5-6 hores, passades les quals s'evapora el cloroform i es redissol el residu lipídic.

β) **Per a l'estudi dels lípids cerebrals, LÖWENTHAL i VAN SANDE empenen el micromètode de JATZKEWITZ, que detallem a continuació.** S'agafa una petita càpsula de porcellana o de vidre i es pesa. Una petita quantitat (100 mg, més o menys) de cervell (cal precisar-ne la zona, el tipus de substància, l'edat i la causa de la mort) és col·locada dins la càpsula, i tornada a pesar. Les peces són tallades en trossos molt petits i introduïdes, juntament amb la càpsula, en un assecador que conté clorur càlcic i pentòxid de fòsfor (P_2O_5). Es fa el buit amb una bomba i es manté així durant 10-12 hores. Després, en pesar novament la càpsula amb el seu contingut, coneixem el pes del fragment sec.

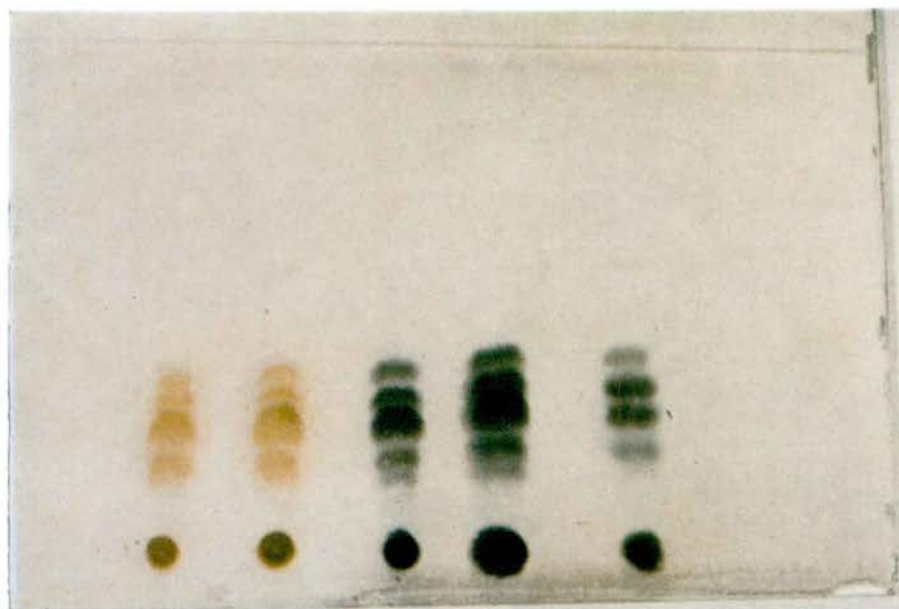
Extracció amb microsoxhlet o micromatràs (25 cc) i condensador de reflux, amb 12 cc de cloroform-metanol (2/1). Hom disposa el matràs (cal afegir-hi perletes de vidre) en un bany maria, i es manté el procés durant 5-6 hores. Havent-la filtrada amb un filtre deslipiditzat hom col·loca la solució en un microerlenmeyer prèviament pesat. El micromatràs de l'extracció serà rentat dues vegades amb 2 cc de cloroform-metanol (2/1). Evaporació del solvent al bany maria a 45° C, sota atmosfera N_2 . Col·locació del matràs amb lípids assecats en un assecador amb Cl_2Ca , P_2O_5 i amb petits fragments tallats d'un bloc de parafina, per a l'absorció de dissolvents orgànics. En pesar altra vegada el micromatràs, coneixem el pes dels lípids que s'hi troben, i també la proporció lipídica continguda en el fragment sec de cervell, el pes del qual havíem determinat anteriorment.



LÀM. V.— Separació cromatogràfica de lípids neutres. En ambdós desenrotllaments han estat emprats els mateixos solvents (cloroform-benzè). En cada desenrotllament ha estat efectuat, a més, un cromatograma monodimensional, per a comparar.



1 2 3 4 5 6



LAM. VI. — Separació cromatogràfica d'esters de colesterol.
 a) Estàndards, d'esquerra a dreta, 1 mescla d'estàndards, 2 colesterol pur, 3 oleat de colesterol, 4 estearat de colesterol, 5 palmitat de colesterol, 6 mescla estàndards.
 b) Separació d'esters de colesterol de sèrum. Cromatogrames esquerra obtinguts amb vapors de iode. Dreta (negres), obtinguts amb fosfomolibdic.

TAULA VIII a (JATZKEWITZ)

Valors R_F . Cromatografia de capa fina de lípids del cervell i els derivats lipídics amb diversos eluents (Taula VIII b)—: Substància es desplaça amb el front; 0: substància es queda a l'origen.

substància test (10 mg)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Esqualè	0,64											
Colesterina												
— lignocerat		0,57										
— estearat	0	0,50	0,75	0,79	0,94	—	—	—	—			0,94
— oleat		0,43										
— linolenat		0,32										
Ester metílic- àcid palmític	0	0,27	0,53									
Ester metílic- àcid lignocèric			0,58	0,70	0,91	0,92	—	—	—			
Tripalmitina	0	0	0,41	0,75	0,94	0,91	—	—	—			0,80
Trioleïna												
Ester metílic de l'àcid ce- rebrònic	0	0	0,18	0,38	0,80	0,47	—	—	—			0,78
Ester metílic de l'àcid α -hi- droxi-estearic	0	0	0,15		0,77							

Els lípids secs són dissolts amb cloroform-metanol (1-1 o 2-1), segons la fórmula següent:

$$10 P = \frac{V}{2}$$

Per exemple, si el pes dels lípids obtinguts és de 50 mg, cal dissoldre'ls en 2,5 ml de cloroform-metanol. D'aquesta solució, en col·locarem 20-50 i 100 λ a la placa cromatogràfica (vegeu làm. II).

γ) Estudi dels lípids procedents de biòpsies cerebrals. — Quan hom treballa amb petites quantitats de teixit, té un interès molt gran l'ús de la tècnica d'extracció proposada per D. KARCHER. Els fragments tissulars són congelats, amb neu carbònica (aparell carbo-niège, París), i, mitjançant un criostat, hom hi fa talls de 20 micres, els quals es dipositen damunt un portaobjectes. Damunt els talls, es posen algunes dècimes de cloroform-metanol 2/1 amb una pipeta Pasteur, i, després de moure el porta en totes les direccions, se'n separen 10 λ , les quals es dipositen a 2 cm del cantell inferior d'una placa de silicagel en forma de línia d'1 cm de llargària.

3) *Desenrotllament cromatogràfic.* — a) Separació de lípids neutres. — La separació dels lípids en classes, és a dir esters de colesterol, triglicèrids, colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids, pot ésser feta per sistemes molt diversos, segons que podem observar a la taula VIII. Nosaltres hem emprat dos sistemes distints, que ara descriurem.

Un cop preparada la placa cromatogràfica i disposats els extractes a 2 cm del cantell inferior, hom prepara la cambra cromatogràfica (Desaga), embolicada per dins amb paper de filtre o de cromatografia (per exemple, WHATMANN, 3 M M), amb l'objecte d'aconseguir una saturació total. Hi afegim els solvents, que habitualment són cloroform i benzè (3:2), uns 100 cc. Esperem que la cambra se sature, i tot seguit hi introduïm la placa. Esperem que el front del dissolvent recorri 15 cm (triga, aproximadament, 45 minuts), i després traiem la placa cromatogràfica i esperem que s'eixugui a la temperatura de l'ambient o, encara més bé, a 70° C, durant uns 10 minuts. La deixem refredar, i la placa és ja a punt de revelar, el qual descriurem en el pròxim apartat.

Mitjançant aquest sistema, se separen de dalt a baix els compostos següents, dels quals indiquem els $R_f \times 100$ i els centímetres recorreguts (làm. IV).

— Esters de colesterol	(77; 12,4/16)
— Triglicèrids	(58; 9,3/16)
— Colesterol lliure	(21; 3,5/16)
— Àc. grassos lliures	(6; 1,1/16)
— Fosfolípids	0

Ocasionalment, per damunt dels esters de colesterol, se separa una altra fracció, la qual ha estat provat que es tracta de l'esqualè. De vegades, també, se separen els mono- i diglicèrids.

(C ₁₁ -C ₂₄)	0	0	0,09	0,09	0,18	0,22	0,90	0,60	0,77			0,56	
Monoestearat de glicerina	0	0	0	0,02	0,09	0	0,29	0,47	0,54			0,47	
Ceramida	0	0	0	0	0	0	0,10	0,28	0,10	0,85		0,43	
Àcid cerebrònic	} 0	0	0	0	0	0	0,31	0	0,04			0,41	
Àcid α-hidroxi-esteàric													
Ester de l'àcid querasinsul- fúric	0	0	0	0			0,27			0,69	0,66	0,29	
Ester de l'àcid cerebronsul- fúric											0,61	0,66	0,25
Lecitina											0,25	0,53	0,15
Esfingomielina											0,13	0,40	0,11
Gangliòsid- fracció	} 0	0										0,11	0—
Cefalina												0	0

TAULA VIII b (JATZKEWITZ)

Solvents	Distància recorreguda a 20° C	Temps (hores)
I. N heptà "K"	10	1/2
II. Tetraclorur de carboni	18	3 1/2
III. 1,2 dicloretà "K"	15	50 minuts
IV. Cloroform "K"	15	1 1/2
V. Clorur etilè/metanol 98/2	15	1/2
VI. Ester petroli 40°-70° C) Dietilèter 70 : 30	15	1
VII. Cloroform-àcid acètic 96 : 4	10	1 1/2
VIII. Cloroform-metanol 95/5	10	50 minuts
IX. Dietilèter	10	80 minuts
X. N. propanol 12,5 % amoníac 80 : 20	10	3 1/2
XI. N. propanol 17 % amoníac 70 : 30	10	3 3/4
XII. a) Mescla X	8	1 3/4
b) Mescla V	17	1 3/4
c) Cloroform/àcid acètic 96 % 95 : 5	10,5	1 1/4

K = sobresaturació cambra.

Hem assajat en alguns casos la cromatografia bidimensional emprant en tots dos desenrotllaments el mateix solvent. Podem veure'n un exemple a la làm. V.

Un altre sistema que ocasionalment hem usat és la mescla d'èter etílic, èter de petroli i àcid acètic (10:90:1). Recorregut, 15 cm. Se'n separen les següents fraccions:

- Esters de colesterol
- Triglicèrids
- Àcids grassos lliures
- Colesterol
- Mono- i diglicèrids
- Fosfolípids.

b) Separació d'esters de colesterol.—Els esters d'àcids grassos de colesterol se separen entre ells mitjançant quatre elucions de 10 cm cada vegada, i s'assequen amb aire calent després de cada elució, amb èter de petroli (60-80) i cloroform 90/10. El temps de cada elució dura aproximadament 25 minuts. Se separen els següents esters (làm. VI):

- Colesterina estearat i palmitat 3-4 cm
- Colesterina oleat 3 cm
- Colesterina linoleat 2-3 cm
- Colesterina linolenat 1-2 cm
- Colesterina araquidonat 1 cm

La quantitat que aplicarem per prova és de 2 i de 5 λ .

KARCHER i coHabs., per a l'estudi dels esters de colesterol del teixit cerebral, apliquen 10 μ l d'extracte de cervell damunt la placa. Fan dos recorreguts de 16,5 cm cadascun, amb èter de petroli (40-60) i diisopropil èter (98, 6/1,4,4 V/V). Després de cada recorregut hom eixuga la placa.

c) Separació de fosfolípids sèrics.—Són aplicats a la placa 20 i 30 λ de l'extracte sèric. Recorregut, 14 cm, amb cloroform-metanol-aigua 65,25,4. Així mateix, hem usat el sistema que recomanen CARTON i coHabs. (1968): cloroform, metanol, aigua, àcid acètic (60/30/6/1). Recorregut, 15 cm, el qual triga uns trenta minuts a realitzar-se.

En el sèrum se separen cefalina, lecitina, esfingomielina i lisolecitina (làm. VII):

- Cefalina 60 (8,4/14)
- Lecitina 37 (5,25/14)
- Esfingomielina 25 (3,6/14)
- Lisolecitina 23 (3,3/14)

Quan interessa de fer separacions més perfectes dels fosfolípids, com en el cas dels extractes cerebrals, LÖWENTHAL i coHabs. recomanen el mètode de JATZKEWITZ, que detallem a continuació (làm. II i fig. 2).

Convé de fer servir una espessor de silicagel de 400 μ . El sistema es basa en dos recorreguts amb dos tipus de solvents:

Solvent I	Cloroform	— 73
	Metanol	— 28
	Aigua	— 4,5

Recorregut de 20 cm de longitud, i llavors cal esperar 10 minuts més abans de treure la placa de la cambra. El temps del recorregut total és d'una hora i mitja.

Després d'aquest recorregut cal assecar la placa durant tres hores a la temperatura ambient, o bé durant 30 minuts a 70° C. Hom deixa refredar la placa i, després, la col·loca a la cambra cromatogràfica saturada amb l'altre solvent:

Solvent II	Propanol	— 80
	NH ₄ OH 25 %	— 8
	H ₂ O	— 12

Recorreguts 9 cm comptats a partir del punt d'aplicació, temps 1 h 45 minuts, la placa és deixada a eixugar durant 2 hores a 70° C, i llavors és a punt d'ésser polvoritzada amb el reactiu de KÄGI-MISCHER. Per mitjà d'aquest sistema se separen perfectament (fig. 2):

- Colesterol
- Acids grassos lliures?
- 2 cerebròsids
- Etanolamina fosfàtid
- 2 sulfàtids
- Colin fosfàtid
- Etanolaminalisofosfàtid
- 2 esfingomielines
- Colin lisofosfàtid
- Serinfosfàtid
- 3-4 gangliòsids

En els casos en què interessa la separació dels gangliòsids entre ells poden ésser usats els següents solvents:

— Cloroform	60
— Metanol	35
— Hidròxid amònic 10 %	8

Hom deixa la placa dues hores dins la cambra. Un cop eixuta, hom la polvoritza amb reactiu d'orcínol.

d) Separació de triglicèrids.— La separació de triglicèrids entre ells és aconseguida mitjançant la cromatografia en fase invertida, impregnant

la capa fina (kieselgur o silicagel) amb diversos agents (tetradecà sol eterea, oli de parafina, oli silicona, sol. nitrat d'argent...)

A nosaltres ens ha proporcionat un bon resultat la impregnació amb nitrat d'argent al 12,5 % del silicagel. En comptes de mesclar-lo amb aigua destil·lada, el mesclarem amb l'esmentada solució de nitrat d'argent. Les plaques s'espallien fàcilment.

Damunt la placa hom fa dipòsits de 40 λ d'extracte de sèrum i empra com a dissolvent el benzè. Recorregut, 15 cm. Temps, 15-20 minuts.

Actualment aconseguirem la separació de 5-6 compostos, els quals, per ara, no hem pogut identificar (lãm. VIII).

MICHALEC i col·l·l·ls. (1962) aconseguen la separació dels següents triglicèrids en el sèrum:

- Trilinoleïna
- Oleodilinoïna
- Linoleodioïna
- Trioleïna
- Triglicèrid inidentificat

e) Separació d'àcids grassos lliures.— El mètode ideal per a la separació d'àcids grassos lliures és el cromatogràfic en fase gasosa; però, com que no disposem de cromatògraf de gasos, assagem actualment un mètode en capa fina en què cal emprar el silicagel silanitzat (MERCK).

BENNETT i HEFTMANN (esmentats per D. HEUSSER) usen com a dissolvents dioxà-aigua-àcid fòrmic (60 : 35 : 5). La separació és aconseguida per un procediment continu de més de quatre hores de durada, emprant una disposició de la cubeta segons BENNETT i HEFTMANN. Tenyiment amb àcid fosfomolibdic, escal·lant posteriorment la placa a 150° C. Introducció de la placa en atmosfera d'amoniac durant alguns minuts. Amb aquest mètode aconseguim de separar els àcids esteàric, palmític, mirístic, làuric, caprínic, caprílic i caprònic. Els parells crítics no se separen.

4) *Mètodes de determinació.*— Els mètodes de revelat per a la cromatografia en capa fina aplicats als lípids són molt abundosos.

Nosaltres fem, en general, el tenyiment amb àcid fosfomolibdic al 10 %. Un cop és seca la placa cromatogràfica, la col·loquem en una campana, en la qual, ajudats per un polvoritzador (pera de goma, aparell compressor o *jet pak*), farem diverses passades damunt la placa on hi ha la solució d'àcid fosfomolibdic. A continuació ho introduïm a l'estufa a 110-130° C durant 10-15 minuts, i apareixen els lípids de color negre, amb el fons groc. Podem descolorir el fons introduint la placa en una cambra on hi hagi vapors d'amoniac, durant alguns minuts.

En estudis dels esters de colesterol hem emprat, de vegades, vapors de iode col·locant la placa cromatogràfica en una cambra amb iode metàl·lic a dins; el I₂ es fixa en els dobles enllaços dels àcids grassos no saturats (veg. lãm. VI).

Així mateix, hem emprat l'àcid sulfúric com a substància de revelat, i els

lípidis apareixen de color marró fosc; això no obstant, creiem que és millor el tenyit amb àcid fosfomolibdic.

Les aspersions amb sol 2,7 diclorofluoresceïna i amb rodamina B (0,5 %). permeten la visualitat dels lípidis sota la llum ultraviolada. Aquest mètode té interès en la cromatografia preparativa per a aïllar un grup determinat de lípidis i posteriorment recromatografiar-lo en capa fina, o, millor encara, en cromatògraf de gasos.

En l'estudi dels lípidis cerebrals dóna un bon resultat el revelat amb reactiu de KÄGI-MISCHER:

- 50 ml àcid acètic
- 1 ml SO_3H_2
- 0,3 ml anisaldehyd.

Cal polvoritzar els 50 c. c. damunt la placa, i col·locar-la a l'estufa durant 15 minuts, a 110°C .

Quan interessa l'estudi específic dels gangliòsids, convé d'emprar el reactiu d'Orcinol, que cal mantenir a la nevera:

Cl H conc.	40,7 ml
Orcinol	100 mg
Cl ₂ Fe 1 %	1 ml
H ₂ O	fins a 50 ml.

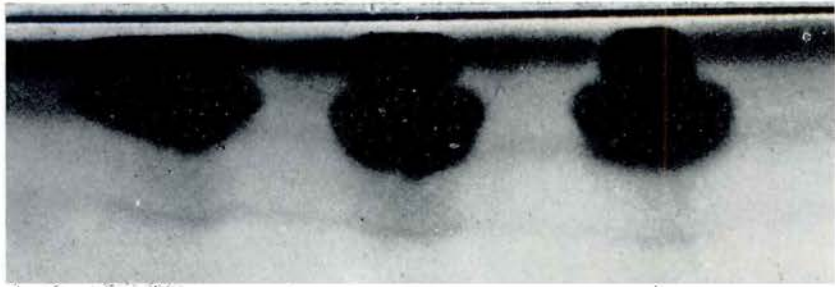
5) *Interpretació de resultats.* — La cromatografia en capa fina aplicada a l'estudi dels lípidis és un sistema extraordinàriament interessant, per tal com permet un estudi qualitatiu de les diverses menes de lípidis en poc temps, mentre que l'aplicació de mètodes químics comportaria un nombre d'hores elevat. En contraposició, el mètode cromatogràfic és per excel·lència qualitatiu, i semiquantitatiu si hom treballa en condicions estàndard. Permet de parlar d'augmentos o de minves d'una fracció o d'una altra. Nosaltres acostumem a emprar les denominacions següents:

a) Cromatograma normal; és aquell que, en comparació amb el control (Metrix, Monitrol I o *pool* de sèrums normals), presenta la mateixa intensitat i el mateix diàmetre de les taques lipídiques.

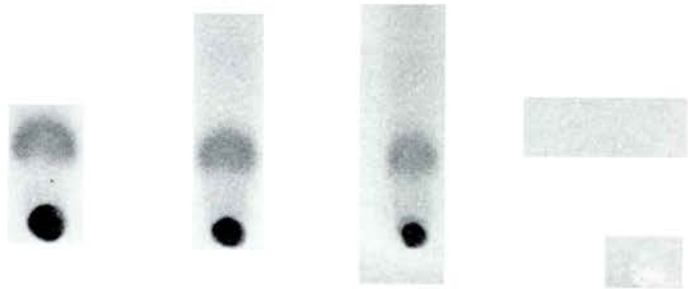
b) Discret augment, notable augment o gran augment d'una o de més fraccions, referits sempre al control normal.

c) Disminució d'una o de més fraccions; és un terme referit a la minva del diàmetre i de la intensitat de color d'una o de més taques. Això no obstant, com podem observar, són termes en què l'apreciació personal és molt important.

Algunes vegades hem comprovat que en un cromatograma sèric valorat com a normal, la quantitat absoluta de lípidis valorada químicament era augmentada o disminuïda. Tot i així, no creiem que per això hàgim de menysprear la cromatografia com a mètode, però, tanmateix, sí que en podem conèixer les limitacions.



LÀM. VII. — Desenrotllament de fosfolípids sèrics. Capa final silicagel G. Solvents, cloroform, metanol, aigua. Tint, àcid fosfomolibdics. Hom pot veure, a la part alta, triglicèrids, àcids grassos; més avall, cefalina, lecitina, esfingomièlina i lisolecitina.



LAM. VIII. — Separació de triglicèrids. Capa fina silicagel xopa de nitrat de plata. Solvents, benzè.
Tint, àcid fosfomolibdic.

Han estat publicats dos tipus de mètodes per a quantificar les taques cromatogràfiques: elució i densitometria. El primer consisteix a fer un raspall de la substància cromatografiada, dissoldre-la i llegir-la en un fotolorímetre, comparada amb un blanc que hom fa amb un boci de la placa sense substàncies, i el mateix solvent. És un mètode que pot fer caure en grans errors, i convé d'obtenir molt escrupolosament la zona a eluir.

El segon mètode és el densitomètric. Han aparegut al mercat fa relativament poc temps (una mica més d'un any) unes modificacions dels densitòmetres usats per a l'electroforesi, capaces de valorar plaques cromatogràfiques (ZEISS, VITATRON). Aquests aparells són de cost elevat, i encara no en tenim prou experiència per a avaluar-ne els resultats, que, d'altra banda, semblen satisfactoris.

6) *Altres tipus de cromatografia aplicat a l'estudi dels lípids.* — A més a més de la capa fina, han estat usats d'altres mètodes cromatogràfics en l'estudi dels lípids. MARINETTI usa paper xopat d'àcid silícic en la separació dels lípids sèrics; fa servir com a solvents: n heptà-diisobutylcetona 96:6. Coloració amb rodamina 6 G; aconsegueix una separació dels lípids següents:

- Esters de colesterol
- Triglicèrids
- Àcids grassos lliures
- Colesterol lliure
- Mono i diglicèrids
- Fosfolípids.

Aquest mateix autor aconsegueix, amb el mateix suport, una separació dels fosfolípids sèrics, per cromatografia ascendent durant 5 hores; solvents: diisobutylcetona-àcid acètic-aigua (40:20:3). Coloració, rodamina 6 G.

Amb la cromatografia de columna, FAURE separa els lípids sèrics. Cal preparar una columna de 2 cm de diàmetre que contingui 13 g d'àcid silícic posat en suspensió en èter de petroli (60-70° C). Hom diposita 50 mg de lípids en solució amb el mateix solvent. Son eluïts successivament: 1) els esters de colesterol; 2) els glicèrids; 3) el colesterol lliure; 4) els àcids grassos lliures; 5) els fosfàtids.

Actualment té un gran interès, per a l'estudi dels àcids grassos lliures o esterificats, la cromatografia en fase gasosa. Aqueixa tècnica permet d'analitzar amb precisió mesclades molt complexes d'àcids grassos sota la forma de llurs esters metílics.

Com a cloenda d'aquesta breu revisió de mètodes cromatogràfics emprats en l'estudi dels lípids, exposem l'esquema de BLATON i col·l. abs., que resumeix el conjunt de tècniques aplicables a l'anàlisi lipídica i lipoproteica del sèrum (fig. 5).

B) MÈTODES ELECTROFORÈTICS

Mitjançant l'electroforesi de zona poden ésser perfectament separades les proteïnes, i també aquelles que van lligades amb lípids, les lipoproteïnes. Podem usar dos tipus de tints, els propis de les proteïnes (negre amido, blau de bromofenol, Roig Ponceau, nigrosina...), o bé tints per a posar de manifest els components lípidics (negre sudan, oil Red O, roig escarlata Geigy, Noir au Gras...).

Els suports que poden ésser emprats són el paper (DURRUM), l'acetat de cel·lulosa (KOHN), el gel d'agar (KENDALL i coHabs.), el gel de midó (SMITHIES) i el gel d'acrilamida (RAYMOND), i també la immunoelectroforesi damunt gel d'agar (GRABAR i WILLIAMS).

a) *Electroforesi damunt paper i acetat de cel·lulosa.*—L'electroforesi damunt paper és el mètode més clàssic. Emprem el paper Schleicher-Schüller 2043, i de vegades (per a les lipoproteïnes) el Whatman 3 M. M. Tampó veronal, àcid veronal sòdic, pH 8,6 f. i. 0,05. Cubetes Elphor 100 volts, durant 5 hores. Font d'alimentació, Elphor o Argemí.

Aplicació de 5-10 ul de sèrum a l'extrem catòdic del paper. Després de l'electroforesi, les tires són submergides en una solució saturada d'amidoschwartz (1 gr/100 ml), en àcid acètic-metanol (10-90). Les tires són deixades 10 minuts, passats els quals cal rentar-les amb banys successius d'àcid acètic-metanol, fins al descoloriment. Rentat final amb metanol i assecatge a l'aire.

Uns altres autors empen, per al tenyit, blau de bromofenol, azocarmí B, verd llum...

En el cas de les lipoproteïnes emprem la tècnica de pre-tenyit, amb Noir au Gras.

Per a preparar la solució de colorant cal dissoldre a ebullició i a saturació Noir au Gras, en etanol a 50 %. Ebullició al reflux durant 20 minuts. Filtració. Cal afegir-hi llavors un volum igual d'etanol, al 50 %. Filtració altra vegada. Per a la coloració, les bandes, prèviament eixugades, són submergides durant una hora en la solució colorant. Rentat, en etanol, al 50 %. Calen, en general, tres banys successius per a assolir el descoloriment complet del fons.

Assecatge entre dos fulls de paper de filtre, i posteriorment a l'aire lliure.

Pot ésser emprada la tècnica de la coloració directa del sèrum abans de l'electroforesi. Aquest mètode presenta uns avantatges més notables damunt la tècnica clàssica. Especialment estalvia temps, i hom hi obté millors resultats. (Mc DONALD i coHabs., 1955) (WILEOX i coHabs., 1958.)

La tècnica per al pre-tenyit és la següent: preparem un petit volum de solució saturada de Noir au Gras (BIOLYON) en alcohol absolut i escalfem la solució a 70° C al bany maria, durant 10-15 minuts. Filtrem.

Afegim al sèrum el 10 % del seu volum de solució de colorant (2 cc de sèrum i 0,2 cc de solució Noir au Gras). Ho deixem així en contacte durant una hora, i ho agitem amb freqüència. Centrifuguem.

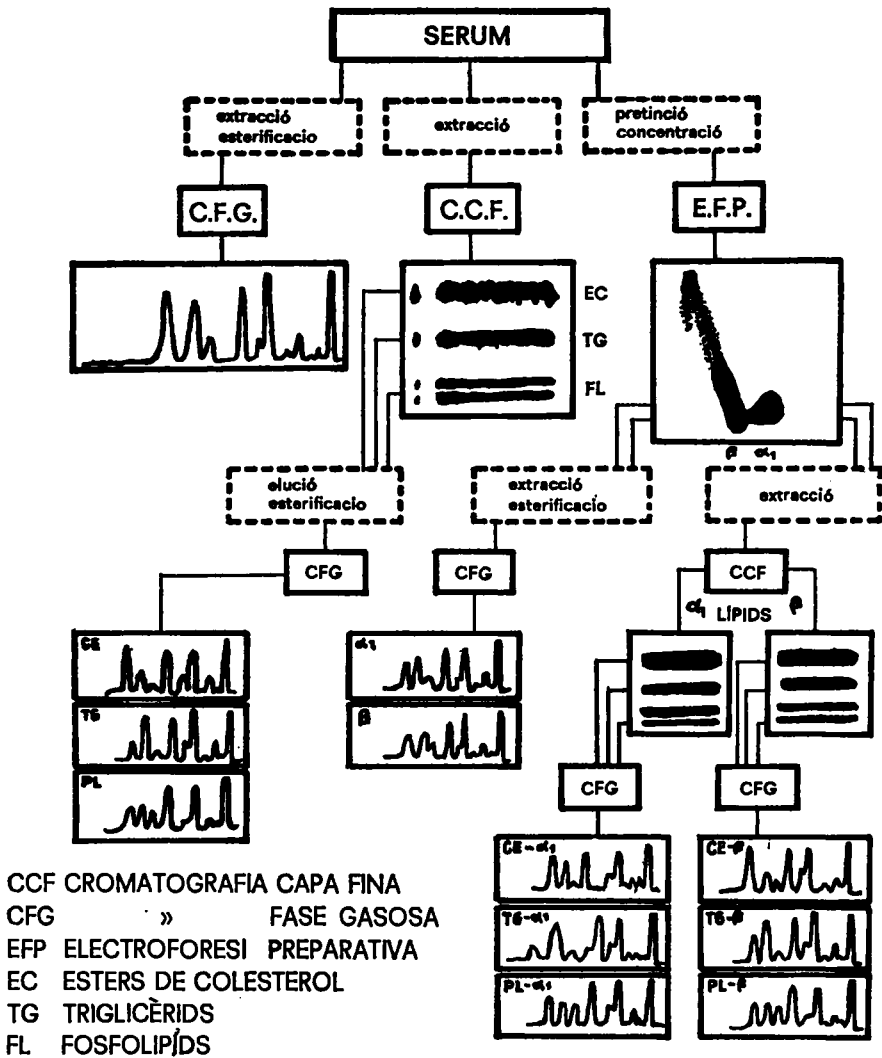


Fig. 5. — Conjunt de mètodes aplicables a l'estudi dels lípids. (Segons BLATON.)

Efectuem l'electroforesi (5 hores a 180 volts) amb una quantitat de sèrum de 80 lambdes.

Eixuguem les bandes a la calor, i llavors ja són a punt per a la lectura.

FREDRICKSON i col·laboradors (1967) recomanen, per a la perfecta separació de les lipoproteïnes, especialment de la pre- β , el mètode següent: tampó barbital f. iònica 0,1, pH 8,6 amb 0,001 M-EDTA i albúmina humana o bovina 1 %. Paper Whatman núm. 1. Electroforesi, 16 hores, 120 volts, 1 m amperi per tira. Obtindrem separacions més notables deixant la tira 3-4 hores a la cambra amb la cèl·lula tancada abans de l'aplicació.

Eixuguem la tira a 95° C, durant 20 minuts. La submergim en solució alcohòlica sobresaturada d'Oil Red (Allied Chemical Corporation), durant 4-6 hores, a 40° C. Després rentem les tires amb aigua, i les eixuguem. Per preparar el colorant procedim de la manera següent:

Alcohol etílic	1.500 cc
Aigua	1.000 cc
Oil Red O	1 g.

Condensació al reflux, i filtració a 37°-40° C.

Mitjançant el mètode d'electroforesi damunt paper per a proteïnes, preparem les cinc fraccions conegudes amb llurs valors normals, que expressem a continuació:

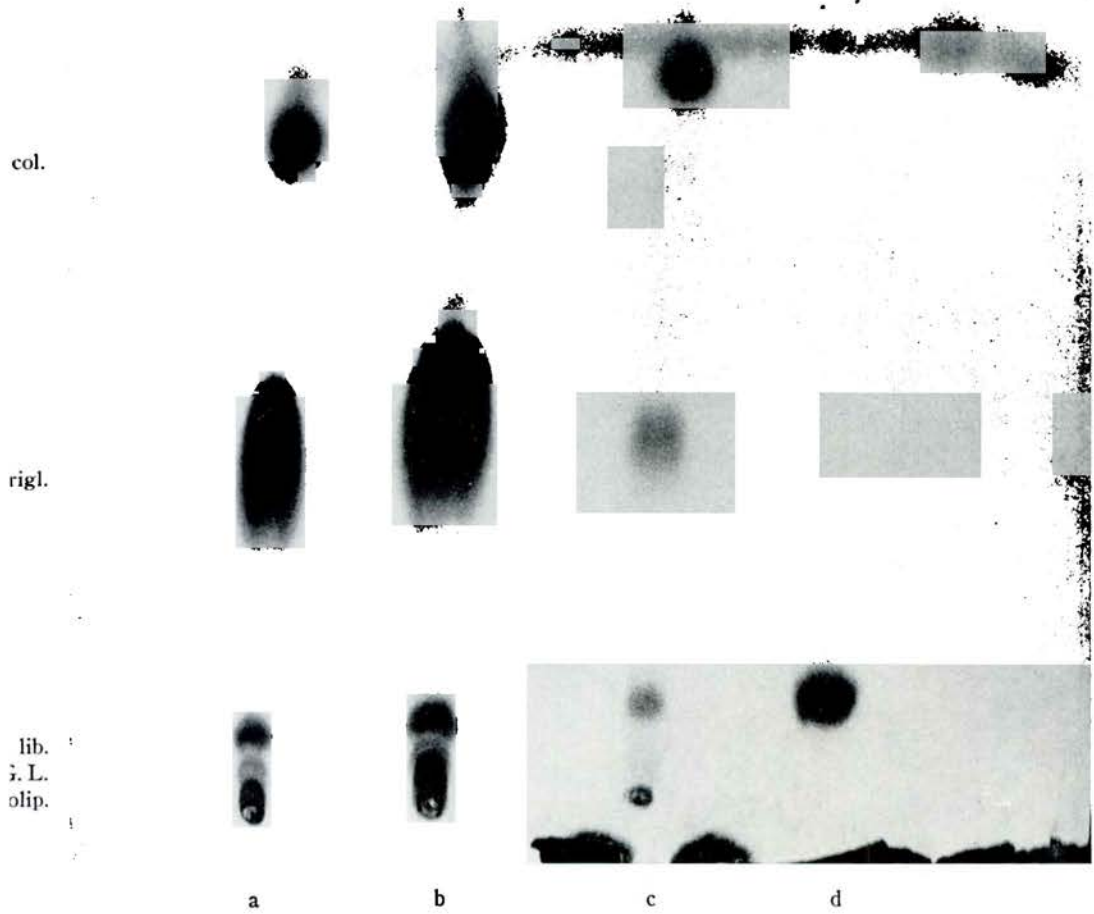
Albúmina	50-60
Globulina α_1	2-6
Globulina α_2	5-11
Globulina β	7-16
Globulina γ	11-22.

Pel que fa a les lipoproteïnes en electroforesi damunt paper, separem tres fraccions: α -lipoproteïna (lipoproteïna d'alta densitat amb un elevat contingut de fosfolípids), β -lipoproteïna (que correspon a la fracció Sf 0-20 de la ultracentrifugació, rica en colesterol) i quilomicrons amb mobilitat electroforètica entre la β -globulina i el punt de dipòsit. Per ultracentrifugació, formen part del component Sf 20-400, i tenen un elevat contingut de triglicèrids. De vegades se separa una quarta fracció, la pre- β -lipoproteïna, que té una elevada proporció de triglicèrids, els quals, pel que sembla, són sintetitzats pel fetge, mentre que els triglicèrids procedents de la dieta van lligats als quilomicrons.

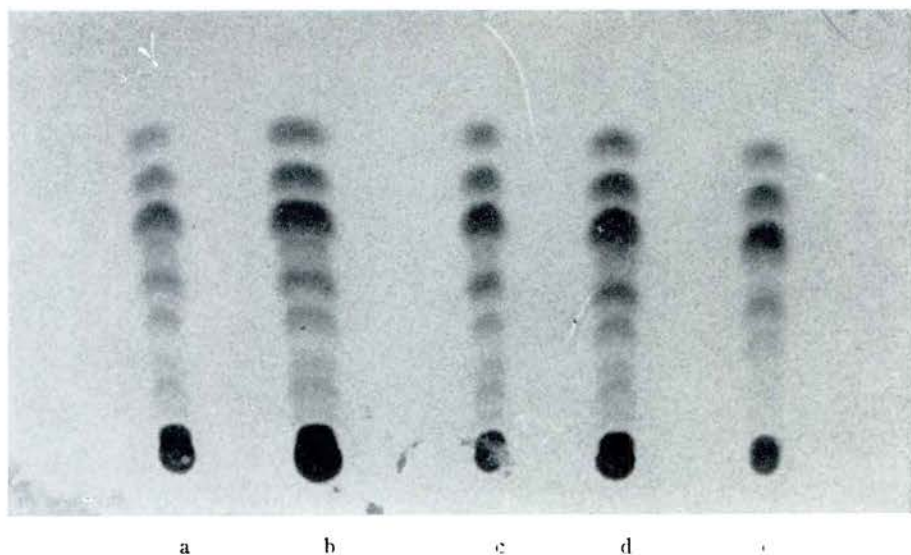
En ocasions normals, en un adult de 30 anys podem trobar les proporcions següents de lipoproteïnes (en condicions basals):

α -lipoprot.	30-40 %
β -lipoprot.	60-70 %

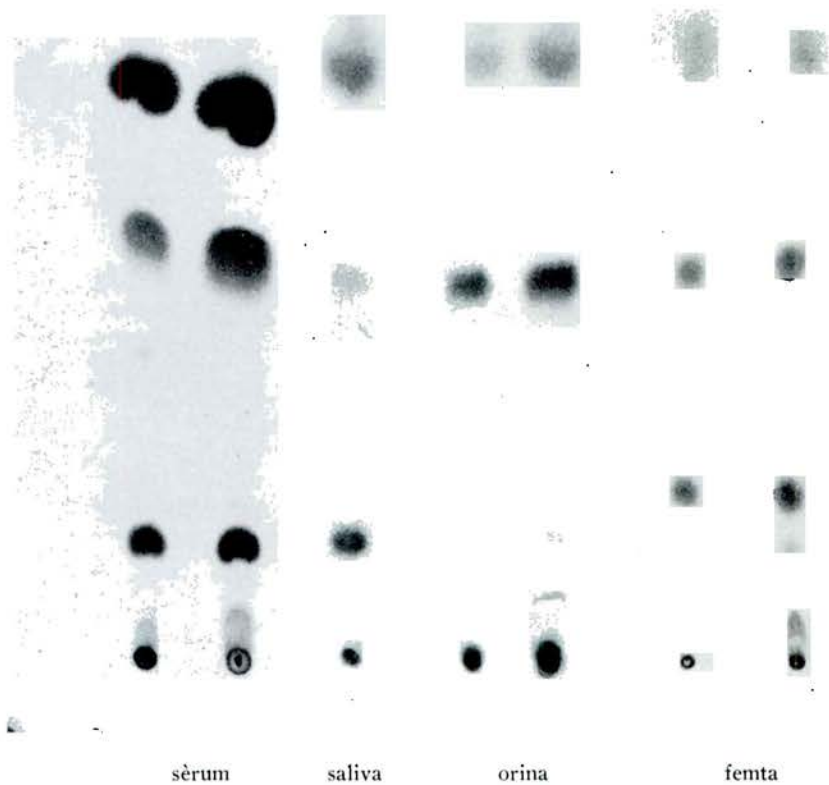
Així mateix les lipoproteïnes poden separar-se, emprant com a suport l'acetat de cel·lulosa (CeHogel), amb pre-tenyit o post-tenyit a l'electroforesi. El colorant recomanat és el Negre sudan, l'Oil Red o Roig Ciba 7 B.



LÀM. IX. — Separació de lípids neutres en un cas d'hiperlipèmia essencial. D'esquerra a dreta: a) Sèrum problema 10λ. b) Sèrum problema 20λ. c) Sèrum normal 10λ. d) Estàndard colesterol lliure. Observeu l'augment extraordinari de triglicèrids i àcids grassos lliures.



LÀM. X. — Separació d'esters de colesterol en un sèrum d'hiperlipèmia essencial. D'esquerra a dreta: a) sèrum problema 2 λ extracte b) sèrum problema 5 λ ; c) sèrum problema 2 λ ; d) sèrum problema 5 λ ; e) sèrum normal 5 λ ; a) i b), sèrums primera extracció; c) i d), segona extracció després de 18 hores de dejuni total. Se separen, al cromatograma, estearat + palmitat, oleat, linoleat, linolenat, araquidonat i clupanodonat de colesterol.



LÀM. XI. — Separació de lípids neutres, en un cas d'hipercolesterinèmia familiar. Cromatogrames de sèrum, saliva, orina i femta.

b) *Electroforesi damunt gels.*—Les diverses proteïnes poden ésser separades damunt gels tamponats, que tenen un gran poder resolutiu. Els més emprats són el d'agar, el de midó i el d'acrilamida. Amb gel d'agar hom aconsegueix separacions de 6-7 fraccions, que tenen interès sobretot com a suport per a la immunoelectroforesi. Amb gel de midó, emprant el midó hidrolitzat, tamponat amb solució de borat, hom aconsegueix la separació de 18-20 fraccions. Mitjançant el gel d'acrilamida, pur o bé amb agar, hom aconsegueix, en determinades condicions, separar de 25 a 30 proteïnes. Nosaltres, bé que tenim experiència en l'electroforesi dels tres tipus de gel, descriurem només la immunoelectroforesi damunt gel d'agar, que és la que hem emprat en la investigació de lipoproteïnes.

c) *Immunoelectroforesi.*—Mesclém 1 g d'agar purificat (Rein agar, Special Noble Difco agar) o d'agarosa amb 100 cc de tampó veronal-àcid sòdic, pH 8,6 o veronal sòdic àcid clorhídric, dins un Erlenmeyer coñocat en un bany maria a ebullició durant una hora. A continuació, el gel d'agar és disposat en un tub d'assaig, que serà conservat després al refrigerador.

Per a la immunoelectroforesi escalfem altra vegada el gel d'agar durant una hora i en disposem 2 centimetres cúbics damunt cada portaobjectes. Ho deixem refredar, i al cap d'una hora ja podem practicar, mitjançant un aparell especial (tallador d'agar, LKB o BUCHLER), els petits pous per al sèrum.

A cada porta en què és practicada la immunoelectroforesi coñoquem, en un dels petits pous, sèrum problema, i en l'altre, sèrum control. Com a sèrum normal podem emprar un *pool* de sèrums normals, o bé un sèrum estàndard comercial. Nosaltres usem habitualment el Standard Human Serum Stabilisiert (Behringwerke), que posseïx la següent concentració de proteïnes (mg/100 ml):

Pre-albúmina	18
Albúmina	2.910
α_1 -glicoproteïna ac.	65
α_1 -antitripsina	120
Gc globulina	20
Ceruloplasmina	15
Colinesterasa	0,5
α_2 HS glicoproteïna	35
Haptoglobina	120
α_2 -macroglobulina	115
β_1 A globulina	55
Hemopexina	60
β_1 E globulina	6
Transferrina	180
β_2 -glicoproteïna	13
Ig M	55
Ig A	130
Ig G	740

Cal tenir en compte que amb el mètode d'estabilització són eliminades les proteïnes làbils, per la qual cosa la concentració de α_1 -lipoproteïnes i β -lipoproteïna és molt baixa. Quan interessa de practicar una immunoelectroforesi de les dues lipoproteïnes esmentades, emprem com a control un sèrum normal extret el mateix dia de l'anàlisi.

Després cal dipositar 3 λ de sèrum normal i problema a cada petit pou, i efectuar una electroforesi de 1 h 15' de durada, amb un voltatge de 200. Finida aquesta electroforesi, buidem el canal central del porta que havia estat efectuat mitjançant l'aparell de tallador d'agar, i hi dipositem 50 λ d'un antisèrum determinat. Nosaltres emprem els següents antisèrums:

de cavall, antiseroproteïnes totals humanes
 de conill, anti- α -lipoproteïna (lãm. I)
 de conill, anti- β -lipoproteïna
 de conill, anti IgA
 de conill, anti IgM
 de conill, anti IgG.

De més a més, en determinats casos emprem d'altres antisèrums específics, com ara anti- α_2 -macroglobulina, anticerculoplasmina, antihaptoglobina, antitransferrina...

Disposem el porta en una cambra humida durant 48 hores, amb vista que s'hi difonguin antígens i anticossos, i a l'indret on coincideixen formen els immunoprecipitats.

Rentem els portes 48 hores amb solució salina, i 48 hores més amb aigua destil·lada, per tal de netejar les proteïnes no precipitades.

Eixuguem la capa d'agar amb un ventilador ventinant-la amb una solució d'amidoschwartz o azocarmí. Decoloració amb àcid acètic al 5 %, durant 30-60 minuts.

C) MÈTODES QUÍMICS

Les tècniques químiques emprades en aquest treball per a sèrum són, fonamentalment: determinació de lípids totals (ZÖLLNER i KIRSCH), colesterol total (RAPPAFORT). Ocasionalment hem determinat colesterol lliure (HOEFMAYR i FRIED) i β -lipoproteïna. Actualment, assagem la determinació de triglicèrids i de glicerina, mitjançant un mètode enzimàtic (EGGSTEIN).

En orina, hem assajat la determinació de lípids totals per mitjà de la tècnica ZÖLLNER i KIRSCH, però ara per ara no tenim dades suficients per a valorar-ne la validesa.

Altrament, sembla que aquesta tècnica té una gran vàlua per a la determinació de lípids en saliva.

La determinació dels lípids fecals ha estat efectuada mitjançant la tècnica de VAN DE KAMER.

III

ALTERACIONS DEL METABOLISME LIPÍDIC

En aquest capítol considerarem la nostra experiència personal en l'estudi de les alteracions del metabolisme lipídic.

Això no obstant, als primers apartats tractarem de la classificació de les hiperlipèmies i de les lipidosis, puix que creiem fonamental d'assentar aquestes bases abans de presentar la nostra experiència personal.

Al laboratori de Bioquímica de la Clínica Mèdica B, que comprèn els departaments de Bioquímica general, Lipoquímica, Cromatografia, Electroforesi i Immunoelectroforesi, hem dut a terme, des de l'octubre de 1967 fins al gener de 1969, un total de 200 determinacions lipídiques parcials, i 267 estudis lipídics complets, incloent al primer grup la valoració de més de 3 constants lipídiques (no avaluem la determinació aïllada de colesterol total que hom practica rutinàriament en tots els malalts que ingressen al Servei del professor Soriano), i al segon grup les determinacions de:

- Lípids totals
- Colesterol total
- Colesterol esterificat i lliure
- Lipidograma damunt paper
- Immunoelectroforesi anti α_1 - i β - lipo
- Cromatograma de lípids neutre
- Cromatograma d'esters de colesterol
- Cromatograma de fosfolípids.

També hem practicat la valoració química, el cromatograma de triglicèrids. En la major part dels malalts, aquestes determinacions han estat efectuades solament en sèrum, mentre que en alguns casos, els especialment patològics (hiperlipèmies essencials i secundàries, hipercolesterinèmia essencial, hipertriglicèridèmies, síndromes de mala absorció), hem efectuat, a més, alguns d'aquests estudis en orina, femta (mètode VAN KAMER), i, ocasionalment, en saliva.

TAULA IX
CLASSIFICACIÓ HIPERLIPOPROTEÏNÈMIES (FREDRIKSON, 1967)

Tipus	Aspecte	L. P.	Electro. paper	Ultracentrífuga	Ultracentrífuga preparativa	Midó	Precipitació polim. alt P.M.	Immunopro. amb anti-B
I	Lletós	Colest. + Trigl. ++	Quilomines Descens d'altres lipoproteïnes	S.J. 100-400		Augment partícules primàries i secundàries	Massissa	Variable
II	Clar	Colest. ++ Trigl. norm. o +	β iii pre- β	S.J. 0-12 20-100	L.D.L. 1006-1063 iii 1006		Abundant	Abundant
III	Tèrbol	Colest. ++ Trigl. ++	pre- β	S.J. 0-12 12-100	1006-1063 1006		Abundant	Heavy
IV	Tèrbol	Colest. + Trigl. ++	pre- β	S.J. 0-20 20-400	Very Low density L. 1006	Partícules endògenes observables	Heavy	Variable
V	Tèrbol o Lletós	Colest. + Trigl. ++	Banda quilomicrons pre- β	S.J. 20-400	Very Low density L. of density 1006	Partícules Primàries secundàries i endògenes	Heavy	Variable

1) CLASSIFICACIÓ DE LES DISLIPÈMIES. DISLIPÈMIES ESSENCIALS

FREDRICKSON (1961) defineix les hiperlipèmies com els augments de les concentracions de lípids en el líquid extracel·lular. El mateix autor (1967) afirma que tots els augments de lípids plasmàtics (tret dels àcids grassos lliures) van acompanyats d'hiperlipoproteïnèmies, per la qual cosa considera sinònims els termes hiperlipèmia i hiperlipoproteïnèmia.

Considera que el terme hiperlipèmia exògena és comparable al terme hiperlipèmia induïda per greixos. Mentre que hiperlipèmia endògena és, generalment, sinònim d'hiperlipèmia induïda per glúcids.

FREDRICKSON i col·labs. (1967) defineixen les hiperlipèmies secundàries com l'expressió metabòlica deguda a una malaltia coneguda; per exemple: síndrome nefròtica o hipotiroidisme. Les hiperlipèmies primàries són aquelles la causa de les quals és desconeguda, i poden ésser familiars o esporàdiques.

FREDRICKSON i col·labs. fan una classificació de les hiperlipoproteïnèmies en tipus que resumim (veg. taula IX).

a) *Hiperlipoproteïnèmia tipus I.* — Caracteritzada per la presència de quilomicros en el plasma 14 o més hores després de la ingestió d'una dieta normal. El patró lipídic que hom observa és la hiperquilomicronèmia amb descens de α - i β -lipoproteïnes. L'aspecte del sèrum és lletós, amb una elevada hipertriglicèridèmia i un colesterol lleugerament elevat. Distingeix un tipus I secundari, que pot ésser observat associat als tipus IV i V, en la diabetis incontrolada, pancreatitis i alcoholisme agut. El tipus I primari apareix en homozigots d'una mutant del gen regulador de l'activitat en l'enzim o els enzims classificants, i és anomenat clínicament hiperlipèmia ideopàtica familiar o malaltia de BÜRGER i GRÜTZ, caracteritzada per hepatosplenomegàlia, arteriosclerosi i pancreatitis. Com a causa d'aquest trastorn ha estat esmentat el dèficit de lipoproteïna lipasa.

b) *Hiperlipoproteïnèmia tipus II.* — Es caracteritza per la concentració elevada de lipoproteïnes de mobilitat β , de composició normal. En aquesta dislipèmia, l'aspecte del sèrum és clar, i augmenta d'una manera notable el colesterol tot essent els triglicèrids normals o discretament augmentats. Augment important de β -lipoproteïnes, i discret de pre- β .

FREDRICKSON i col·labs. distingeixen un tipus secundari que hom observa en hipotiroidisme, icterícia obstructiva, síndrome nefròtica, mielomes, macroglobulinèmia i un tipus familiar que clínicament és anomenat Xantomatosi familiar o hipercolesterinèmia familiar essencial.

c) *Hiperlipoproteïnèmia tipus III.* — En aquest tipus hi ha un augment de lipoproteïnes de mobilitat β , però de densitat anormalment baixa (1006). Sèrum tèrbol, augment de colesterol i, en un grau inferior, de triglicèrids. Herència autosòmica recessiva.

d) *Hiperlipoproteïnèmia tipus IV.* — És inclosa en aquest grup la hiperlipèmia induïda per glúcids. El sèrum és tèrbol, augmenten els triglicèrids i, en

un grau inferior, el colesterol. Hom hi observa també hiperprebetalipoproteïnèmia, amb normalitat de α - i β -lipoproteïnes i absència de quilomicrons. Aquest patró lipídic és observat en diabetis melítus, pancreatitis, tesaurosismosis glicogèniques, hipotiroïdisme, síndrome nefròtica i disglobulinèmia.

e) *Hiperlipoproteïnèmia tipus V.* — En aquest tipus hi ha una combinació de les hiperlipèmies exògena i endògena. El sèrum és tèrbol o lletós, i hi augmenten el colesterol i els triglicèrids. Al lipidograma, hom hi observa quilomicrons i hiperprebetalipoproteïna.

Personalment, hem tingut ocasió d'estudiar nou casos d'hiperlipèmies essencials, dels quals set corresponen als tipus IV i V, un altipus de la colesterinèmia familiar i un altre a la hipertriglicidèmia pura.

Els lípids sèrics oscil·len, en tots set casos, entre 2.000 i 8.000 mg. L'aspecte del sèrum és del tot lletós, i en una de les ocasions semblava pus. Al lipidograma observem una gran zona de quilomicrons i un discret augment de β -lipoproteïnes. En efectuar la immunoelectroforesi, emprant sèrums polivalents, i observem, abans del tenyit, una gran zona blanca que roman al punt de partença. L'immunoprecipitat de β -lipoproteïna és discretament més important que en el control, i hom no hi observa cap tret remarcable en la immuno emprant anti- α -lipoproteïna.

En el desenrotllament de lípids neutres de sèrum dels casos dels tipus IV i V observem (lâm. IX) un extraordinari augment de triglicèrids, un important augment d'àcids grassos, un discret augment d'esters de colesterol, i és normal el colesterol lliure.

En el cromatograma d'esters de colesterol (lâm. X), comparat amb el d'un *pool* de sèrums normals, observem un discret augment dels esters saturats i dels àcids mono-, di-, tri- i tetraenòics.

En el cromatograma de fosfolípids observem un notable augment de lecitina, i un augment menys important de lisolecitina i d'esfingomielina.

En el desenrotllament de triglicèrids, emprant la cromatografia C. F. en fase inversa, hem observat, comparant el problema amb un estàndard normal, un augment de tots els triglicèrids.

En els casos en què hem estudiat les lipidúries dels malalts dels grups IV i V, hi hem observat, en general, un augment de triglicèrids urinaris. Al pròxim capítol insistirem sobre aquest aspecte, i volem aclarir que actualment portem a terme un treball en aquest sentit que fem en col·laboració amb els doctors BALAGUÉ, DUARTE i COMPANYYS.

En el cas catalogat com a hipercolesterinèmia familiar observem, en el desenrotllament de lípids neutres sèrics, un augment d'esters de colesterol, triglicèrids i colesterol lliure. Així mateix, hem efectuat conjuntament un cromatograma de saliva, orina i excrements. A la saliva observem esters de colesterol, colesterol lliure i indicis de triglicèrids i àcids grassos lliures. A l'orina és molt important la zona de triglicèrids, i hi observem també esters de colesterol, àcids grassos lliures, "fracció dipòsit" i indicis de colesterol lliure. A l'extracte d'excrements,

hi observem triglicèrids, àcids grassos lliures, colesterol lliure i esterificat, i una fracció no identificada (diglicèrids?) (lám. XI).

Hem estudiat un malalt que presentava crisis doloroses abdominals, en el qual aparegué un sèrum lletós en l'extracció de sang per a efectuar les anàlisis de rutina. En el desenrotllament de lípids neutres, resta demostrat que es tracta pràcticament d'una hipertrigliceridèmia pura. En el desenrotllament de triglicèrids observem augments de les fraccions 1-3-4, comparat amb un estàndard normal. Els esters de colesterol són normals. En el lipidograma fou demostrada una hiperquilomicronèmia.

2) LIPOÏDOSI

Les lipoidosis són definides com aquelles malalties provocades per una acumulació de lípids als teixits. Aquestes acumulacions són degudes al dèficit d'un enzim que intervé en el metabolisme del lípid acumulat.

Tractar, bé que breument, les lipoidosis en aquest treball, seria fora de lloc, si no fos perquè la cromatografia en capa fina permet el diagnòstic i la classificació d'una tesaurismosi lipídica d'una manera ràpida i senzilla (fig. 2).

La major part de les lipoidosis afecten el sistema nerviós fonamentalment i d'altres teixits en què sigui localitzat el sistema reticle-endotelial.

Les anormalitats de la malaltia de TAY-SACHS es limiten al teixit nerviós. La malaltia de NIEMANN-PICK i la de GAUCHER afecten només el S, R, E, o poden anar acompanyades d'una lesió cerebral àmplia. En la sulfatidosi infantil és important l'acumulació de sulfàtids al ronyó.

A la taula X resumim les lipidosi més importants, amb els corresponents lípids emmagatzemats; interessa de recordar l'acumulació de gangliòsids en la malaltia de TAY-SACHS, de cerebròsids en la de GAUCHER, de sulfàtids en la leucodistròfia metacromàtica i d'esfingomielina en la malaltia de NIEMANN-PICK. Fa poc temps han estat demostrades les tesaurismosis d'esters de l'àcid fitànic (REFSUM) i de colesterol i triglicèrids a la malaltia de WOLMAN. Finalment, dins aquest grup poden ésser incloses les hipolipoproteïnèmies β (síndrome BASSEN-KORNZWEIG) i α (malaltia de TANGIER).

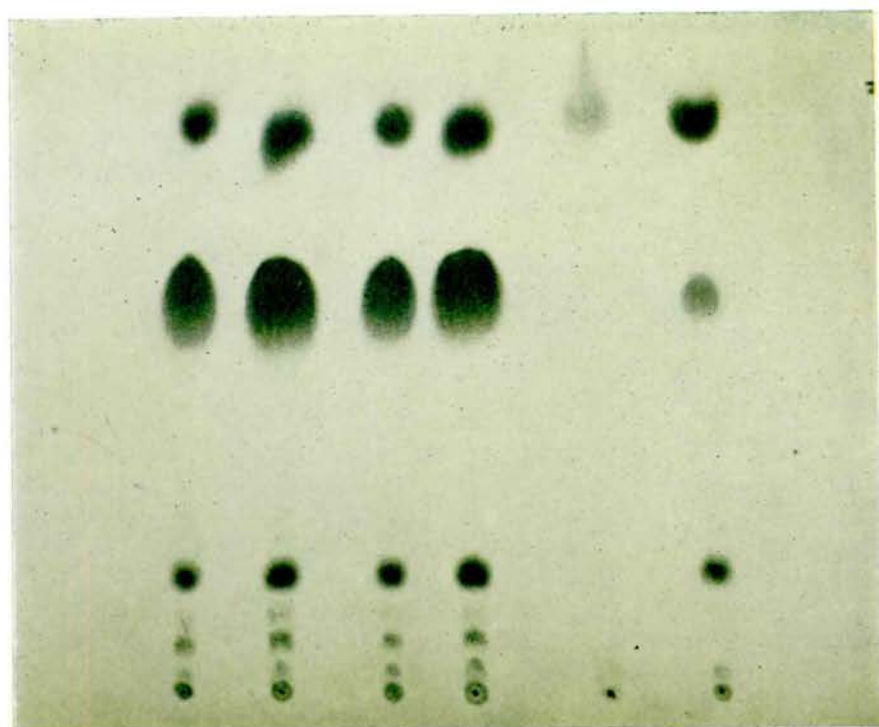
D. KARCHER (1969), mitjançant cromatografia en capa fina d'esters d'àcids grassos cerebrals, demostra l'augment d'àcids saturats i la disminució d'àcid tetraenoic en la mielinització, i també que l'augment d'àcid monoenoic i el descens del tetraenoic són específics de la dismielinització. D'altra banda, la mateixa autora esmenta l'elevació dels àcids monoenics en processos com ara leucoencefalitis subaguda esclerosant, epilèpsia amb mioclònia, malaltia de WOLMAN i malaltia de TAY-SACHS. L'elevació d'àcids grassos tetraenics s'observa en gorgolisme, leucodistròfia metacromàtica i paràlisi infantil general.

TAULA X

NEUROLIPIDOSIS (LÖWENTHAL)

- I. *Lipidosis amb acumulació lipídica coneguda.*
 - A. Esfingolipidosi.
 1. Gangliosidosi generalitzada ----- Gangliòsid GM₁.
 2. Malaltia de TAY-SACHS ----- Gangliòsid GM₂.
 3. Gangliòsids GM₂.
 4. Malaltia de GAUCHER ----- Cerebròsids.
 5. Malaltia de FABRY ----- Digalactosilceramidosi.
 6. Malaltia de KRABBE ----- Galactosilcerebròsids.
 7. Leucodistròfia metacromàtica ----- Sulfatidosi.
 8. Malaltia de NIEMANN-PICK ----- Esfingomielina.
 - B. Acumulació de lípids menys polars.
 1. Malaltia de REFSUM (àcid fitànic i fitanat de colesterol).
 2. Malaltia de WOLMAN (colesterol i glicèrids).
 - C. Hipolipoproteïnèmies.
 1. Síndrome de BASSEN-KORNZWEIG (a betalipoproteïna).
 2. Malaltia de TANGIER (dèficit alfalipoproteïna).
- II. *Acumulacions de lípids i d'altres substàncies.*

Gargolisme ----- Mucopolisacàrids, Gangliòsids GM₂, GM₃.
- III. *Neurolipidosi no demostrades.*
 1. Idiòcia amauròtica familiar, forma tardana.
 2. Idiòcia amauròtica congènita.



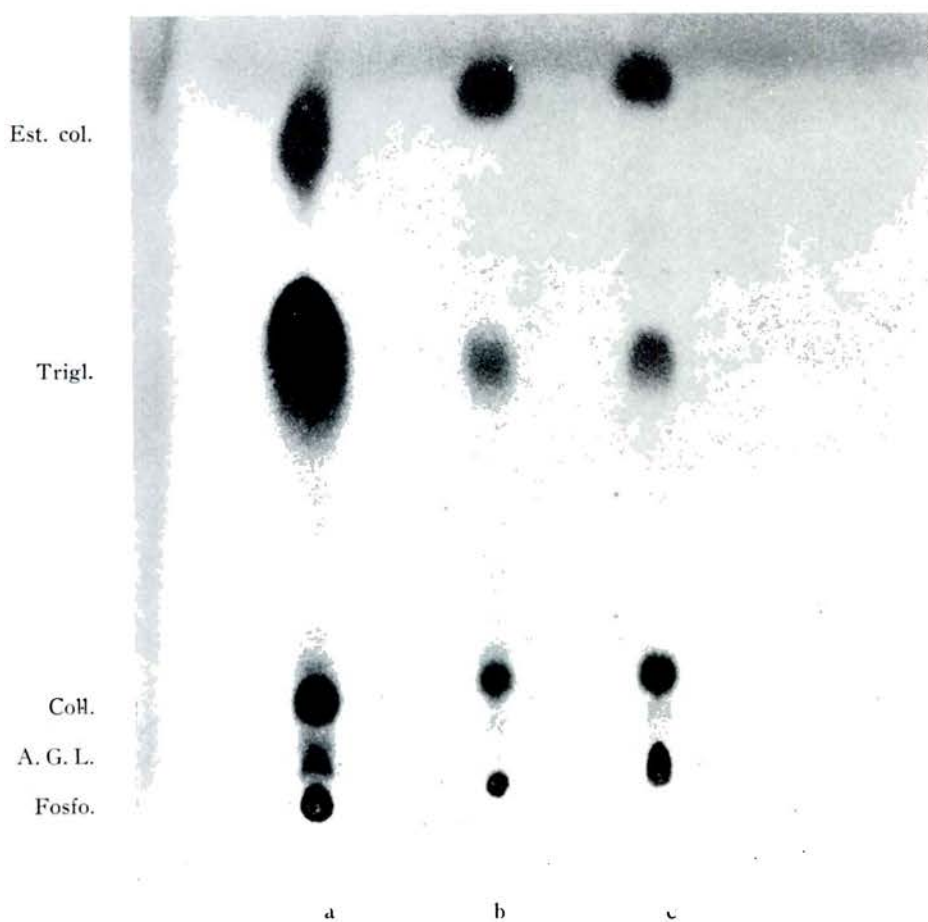
sèrum I

sèrum II

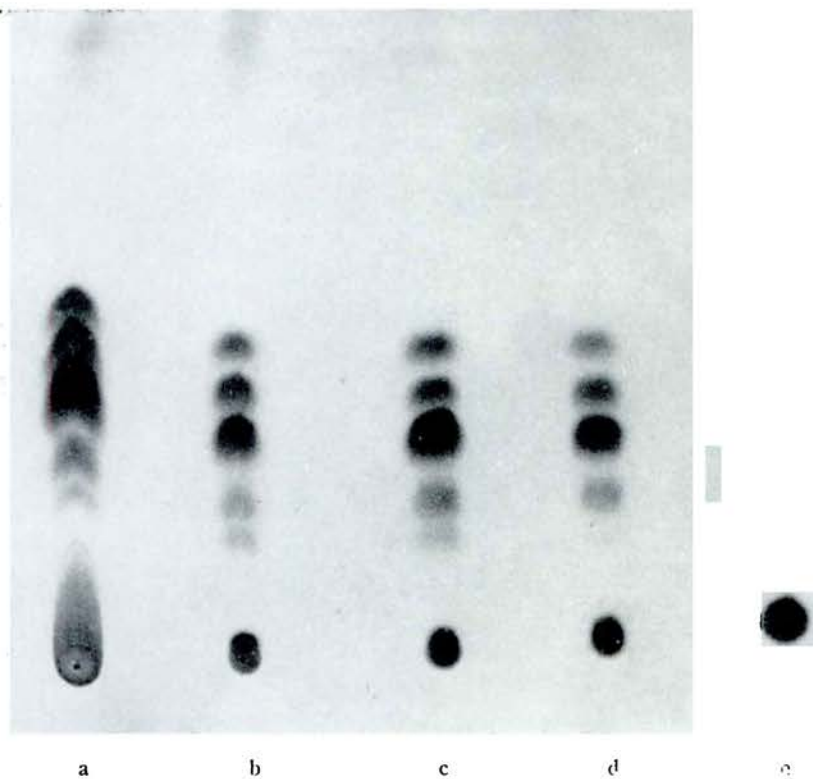
orina

sèrum normal

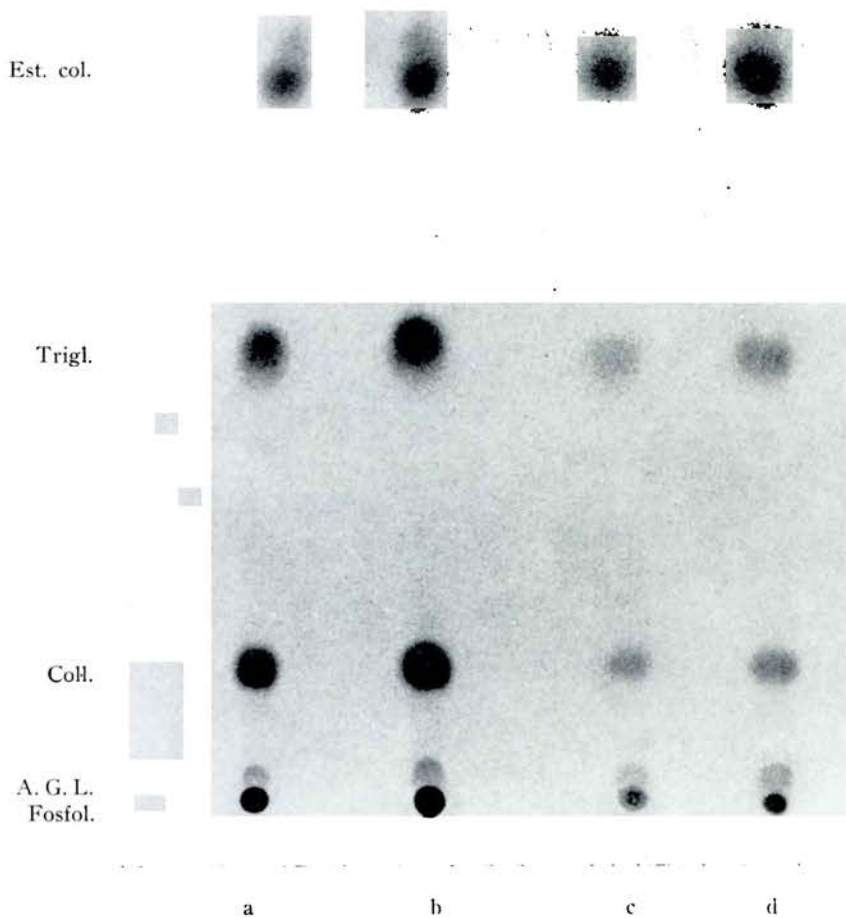
LAM. XII. — Diabetis. Separació de lípids neutres. Observeu l'augment, amb les dues extraccions dutes a terme, dels triglicèrids. Lípids totals, primera extracció, 3.250 mg %. Segona, 2.890. Glicèmia inicial, 256 mg %.



LÀM. XIII. — Separació de lípids neutres en un diabètic. *a)* fase de coma; *b)* després de la recuperació de l'estat de coma; *c)* sèrum control. Observeu la important variació entre els dos cromatogrames en millorar l'estat clínic del malalt.



LÀM. XIV. — Separació de colesterol en les dues extraccions del diabètic referit a la figura anterior. *a*) 2λ extracte, primer dia; *b*) i *c*) 2λ extractes sèrum segon dia; *d*) control; *e*) estàndard colesterol lliure.



LÀM. XV. — Separació de lípids en un cas d'icterícia obstructiva de llarga durada. Colesterol total, 800 mg %. a) i b), 5 i 10 λ sèrum problema; c) i d), 5 i 10 λ sèrum normal. Observeu l'"esfondrament dels esters de colesterol", l'augment de triglicèrids i el de fosfolípids.

3) ALTERACIONS DELS LÍPIDS SÈRICS EN LA DIABETIS MEL-LITUS

CASERTANO i col·laboradors (1967) assenyalen la importància de les alteracions lipídiques sèriques i urinàries que hom observa en el curs de la diabetis; aquestes alteracions són progressivament més importants com més gran és la gravetat del diabètic, especialment en l'estat de coma, pre-coma i cetoacidosi. Assenyalen, en sèrum, hiperlipèmia total, hiperlipacidèmia, hipergliciridèmia i hiperfosfolipèmia, factors responsables d'hiperlipúria, hiperglicidúria, augment d'àcids grassos saturats i de la fracció "polar", urinària.

Personalment hem estudiat deu casos d'hiperlipèmia en diabètics greus. En alguns (lám. XII) hi ha gairebé exclusivament notables augments de triglicèrids, amb normalitat en els desenrotllaments de fosfolípids i d'esters de colesterol.

La cromatografia C. F. permet de portar a terme estudis comparatius de les variacions dels lípids sèrics en un diabètic greu, i veiem com en un estat de coma hom observa una hiperlipèmia global (esters de colesterol, triglicèrids, colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids), que desapareix totalment en millorar el malalt del seu estat. És molt demostrativa la lám. XIII, on podem veure dos patrons lipídics del tot diferents, comparats amb un sèrum normal, en un diabètic en coma i al cap de 24 hores d'ésser evident el millorament clínic.

A la lám. XIV podem contemplar els cromatogrames d'esters de colesterol en la fase inicial i al cap de 24 hores, i veiem des d'un augment de tots els esters fins a la normalització total. Així mateix observarem la mateixa variació en els fosfolípids, bé que al cap de 24 hores persistia un augment de lisolecitina i d'esfingomielina.

Estudiarem també els cromatogrames d'un coma diabètic, en el qual obtinguérem tres mostres distintes de sang, i, tret dels esters de colesterol, el patró lipídic no varià. Es tractava d'un malalt que presentava un pH inicial de 6,74; posteriorment, pujà a 7,15. La seva glucèmia inicial era de 347.

En conclusió: creiem que l'aplicació de la CCF en les dislipèmies diabètiques té un gran interès, puix que permet d'observar el patró lipídic sèric i urinari, que oscil·la des de la hipertrigliceridèmia fins a la hiperlipèmia global en relació directa amb l'estat clínic-metabòlic del malalt. I també permet de realitzar estudis comparatius sobre les variacions d'aquest patró lipídic a diversos estadis del curs de la malaltia.

4) DISLIPÈMIES EN TIREOPATIES

És prou conegut el fet que en els hipertiroïdismes minva el nivell de colesterolina sèrica, mentre que augmenta en els mixedemes. Segons FARRERAS, en aquells minva a 150 mg %, i en el mixedema puja per damunt de 300. En l'hipertiroïdisme hipofisogen augmenta poca cosa. Segons PASQUALINI, la colesterolèmia és

disminuïda en l'hipertiroideu, però escasses vegades minva per davall del límit inferior, bé que ocasionalment només hi poden haver 100 mg %. Els altres lípids de la sang s'alteren menys que el colesterol.

En el mixedema, la colesterolemia assoleix valors superiors a 300 mg % i àdhuc sobrepasa els 600, i comprèn el colesterol lliure i els esters. Els fosfolípids també hi són augmentats.

PEZOLD (1965) compara els nivells lipídics en sèrum en un grup d'hipertiroideus, en relació amb subjectes normals. Per a aquests, troba una mitjana de 700 mg % de lípids totals, amb un 31 % de colesterol (10 % lliure i 21 % esterificat), un 35 % de triglicèrids i un 35 % de fosfolípids. En l'hipotiroïdisme, la mitjana de lípids és de 1.700, 40 % de colesterol total (11 % de colesterol lliure, 29 % d'esterificat), 26 % de triglicèrids i 33 % de fosfolípids. Observa, per tant, una hiperlipèmia global, amb augment percentual de la fracció corresponent al colesterol.

Personalment hem tingut ocasió d'estudiar cromatogràficament un cas d'hiperlipèmia en un mixedema. El sèrum, notablement lletós, presentava un nivell lipídic de 2.430 mg %. En el desenvolupament de lípids neutres, observarem un augment considerable d'esters de colesterol i de triglicèrids, i un augment discret de colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids.

Emprant com a solvent èter de petroli i cloroform, separarem els esters de colesterol, i observarem un augment dels esters d'àcids grassos saturats, monoenoics, dienoics i trienoics.

Finalment, en el desenrotllament cloroform-metanol-àcid/acètic-aigua, mitjançant el qual separem els fosfolípids, observem un augment de cefalina, lecitina, lisolecitina i esfingomielina.

5) DISLIPÈMIES EN HEPATOPATIES

La importància del fetge en la regulació del metabolisme lipídic és coneguda.

En la insuficiència hepàtica greu hi ha un gran augment de lípids totals.

En les hepatopaties, la funció esterificant del colesterol fracassa, i la fracció ester baixa, en casos greus, per sota del 60 % (normalment és superior a un 65 % de la colesterolemia total). Hom diu que en aquests casos existeix un "esfondrament dels esters de colesterol", que és típic de la lesió hepàtica greu (atròfia groga aguda, cirrosi hepàtica). En les oclusions canaliculars biliars completes hom pot observar un augment de la colesterina total del sèrum, àdhuc de la fracció esterificada. Aquesta disminueix altra vegada, si l'oclusió es perllonga més d'un mes. En les hepatopaties cròniques, la colesterina minva, i això també passa en la major part de les cirrosis.

Les cirrosis biliars primàries constitueixen una excepció, car la colesterina hi puja fins a 10 g per litre, i també ho fan els fosfolípids (FARRERAS).

GJONE i ORNING (1966) estudien, per mitjà de la cromatografia en capa fina, les alteracions dels fosfolípids plasmàtics en les hepatopaties. En condicions nor-

mals, en el plasma es troben 3,80 μg P/ml de lisolecitina, 12,25 μg P/ml d'esfingomielina, 51,5 μg P/ml de lecitina i 3,25 μg P/ml de cefalina, que equival, en percentatges, a:

— Lisolecitina	5,4 %
— Esfingomielina	17,3 %
— Lecitina	72,8 %
— Cefalina	4,6 %

En les hepatopaties parenquimatoses agudes i cròniques observem un descens de lisolecitina, tant absolut com relatiu, comparat amb els altres fosfolípids. Els fosfolípids totals són normals o lleugerament minvats. Les proporcions relatives de cefalina, lecitina i esfingomielina són dins els límits normals. La concentració de lisolecitina és en relació inversa amb el grau de la lesió hepàtica.

En la icterícia obstructiva, els autors observen minva de lisolecitina i un gran augment de lecitina.

Personalment hem estudiat, mitjançant CCF, quatre casos de cirrosi hepàtica, en els quals hem trobat un cromatograma de lípids pràcticament normals.

En dos casos de síndrome de DUBIN-JOHNSON no veiem cap anormalitat als cromatogrames de lípids neutres, d'esters de colesterol i de fosfolípids.

En un cas d'icterícia obstructiva intrahepàtica (cirrosi biliar) hem estudiat en tres ocasions els lípids sèrics, i hem obtingut 1.490, 1.350 i 1.690 mg % de lípids totals; 495, 820 i 880 mg % de colesterol total; els valors de la bilirubina total oscil·laren entre 8, 8-10 i 8-10,8 mg %. En el cromatograma de lípids practicat en la primera avinentesa, observàrem un augment d'esters de colesterol, de colesterol lliure i de triglicèrids.

En un cas d'icterícia obstructiva intrahepàtica de llarga durada (22 mesos) fou observada una colesterolèmia total de 800 mg %, i al cromatograma de lípids neutres aparegué el típic "esfondrament" dels esters de colesterol (lâm. XV), amb augment de colesterol lliure i de triglicèrids. Al cromatograma de fosfolípids aparegué un augment extraordinari de lecitina. Al cromatograma d'esters de colesterol aparegué una disminució notable dels esters d'àcids grassos saturats, tri- i tetraenoics.

Creiem que la CCF és un mètode summament adient per a estudiar la funció esterificant del fetge, per tal com, ultra la seva senzillesa, permet d'observar unes alteracions difícils de demostrar per mètodes químics.

6) DISLIPÈMIES EN NEFROPATIES

Hom pot observar dislipèmies de nefropaties, tant si són adquirides com si són congènites, cosa que demostra la participació del ronyó en el metabolisme lipídic. Entre les nefropaties on és evident una alteració del metabolisme lipídic, podem esmentar la nefritis crònica hereditària, en la qual poden ésser observades cèl·lules escumoses, riques en lípids, a l'interstici renal. Així mateix, en la

síndrome de FABRI (angioqueratoma difús), podem observar cèHules amb un notable contingut lipídic al sediment urinari.

Han estat vistes hiperlipèmies transitòries en glomerulonefritis aguda i en la trombosi de la vena renal.

És, però, en la síndrome nefròtica on hom observa la màxima freqüència i la màxima intensitat d'hiperlipèmies. Segons HAMBURGER, no és un fenomen rigorosament constant, i probablement no és específic. Mai no és absent de la síndrome nefròtica de la infantesa, mentre que en síndromes nefròtiques secundàries a amilosi, glomèrulosclerosi diabètica i lupus eritematós disseminat, la hiperlipèmia no és freqüent. Tanmateix, no és pas un trastorn específic, puix que pot ésser observat en la glomerulonefritis aguda en fase precoç.

Les hiperlipèmies de la síndrome nefròtica són molt variables; en casos especials hom pot observar concentracions sèriques fins a 50 g/l, amb colesterolèmies totals de 10 g per mil. En general, l'elevació de fosfolípids és menys important que la del colesterol total. El quocient $\frac{\text{colesterol total}}{\text{fosfolípids}}$, igual, en condicions normals, a 0,80, augmenta en relació directa amb la intensitat de la síndrome dislipèmica. La proporció de colesterol esterificat no varia. La taxa de triglicèrids hi és, en general, augmentada, en menor proporció que els esters de colesterol i els fosfolípids. En els casos més severes, els triglicèrids poden ésser-hi molt augmentats, de manera que determinin l'aspecte lletós del sèrum. El fraccionament cromatogràfic de fosfolípids demostra un augment de lisolecitina, i d'esfingomièlina, amb minva de lecitina. Els àcids grassos lliures són normals o lleugerament minvats.

El lipidograma sèric fa palesa una elevació de β -lipoproteïnes i un descens de α -lipoproteïnes.

La fisiopatologia de la dislipèmia de la síndrome nefròtica és fosca. Han estat proposades tres hipòtesis per a explicar-la: a) a conseqüència de la hipoalbuminèmia plasmàtica; b) la hiperlipèmia sèrica d'origen extraplasmàtic, procedent d'alteracions del metabolisme lipídic a nivell del teixit adipós; c) a conseqüència de la lesió renal, que permetria un pas més ampli de les proteïnes i dels lípids a través del glomèrul (HAMBURGER). Tots els arguments tenen raons experimentals a favor i en contra; és per aquest motiu que els esmentem; creiem que en la síndrome nefròtica calen encara molts estudis per a arribar a una conclusió sobre la fisiopatologia de la dislipèmia.

PEZOLD (1965) observa, en la síndrome nefròtica, nivells mitjans de lípids plasmàtics de 3.000 mg %, dels quals un 52 % són triglicèrids, un 17 % fosfolípids i un 31 % colesterol total, un 10 % del qual és en forma lliure.

La nostra experiència es basa en l'estudi de 22 lipidocromatogrames, lipidogrames i lipidèmies, duts a terme en dotze malalts afectats de síndrome nefròtica.

Els lípids totals en sèrum oscil·len entre 2.500 mg i 7.000 mg %, d'acord amb l'estat clínic del pacient. En la fase inicial de la malaltia poden ésser observades hiperlipèmies molt importants, mentre que quan el quadre clínic i el proteic del

malalt són normals, les taxes de lípids entren a la normalitat. En dues avinenteses hem practicat determinacions quantitatives de lípids urinaris, mitjançant la tècnica de ZÖLLNER i KIRCHS, i hem obtingut valors de 60 i 103 mg %. Aquests resultats només poden ésser acceptats com a mesura aproximada de la lipidúria, car creiem que pot no ésser una tècnica del tot correcta per a la determinació dels lípids urinaris. Poden interferir-hi, en la lectura, pigments urinaris que s'hi trobin presents. Aquest és un aspecte que encara no hem acabat de resoldre, i les nostres actuals investigacions persegueixen la determinació quantitativa de la lipidúria.

En la fase inicial de la síndrome nefròtica observem, juntament amb una marcada alteració proteica al sèrum i a l'orina, una dislipèmia considerable. Al proteïnograma del sèrum observem una disminució d'albumina i de gamma, amb un augment extraordinari de α_2 -globulina. A l'orina observem una proteïnúria de filtració selectiva, amb notable albumina, les globulines α_1 superiors a les α_2 , una important zona de globulines β , amb absència de gamma. Efectuant immunoelectroforesi al sèrum i a l'orina (lám. XVI) i emprant antisèrums polivalents de cavall i anti- α_2 -macroglobulina, anti- α_1 -lipoproteïna i anti- β -lipoproteïna de conill, observem, en el primer, un augment extraordinari de α_2 -macroglobulina i de β -lipoproteïna, amb minva d'albumina i de α -lipoproteïna. A l'orina, hi veiem la presència d'albumina, α_1 -antitripsina, α_1 -lipoproteïna, haptoglobina, ceruloplasmina, transferina, IgA i IgG. Ocasionalment poden ésser-hi observats rastres de α_2 -macroglobulina. Mai, però, no hi observarem (a les concentracions 30 g per mil) β -lipoproteïna, ni IgM.

Per mitjà de la cromatografia en capa fina observem, en la fase inicial de la síndrome nefròtica, un augment d'esters de colesterol, de colesterol lliure, de triglicèrids i, secundàriament, de fosfolípids. En general, no hi ha una variació massa gran d'àcids grassos lliures. Quan el quadre clínic i el proteic es van normalitzant, minven els fosfolípids i els triglicèrids, i hom hi observa encara un augment de colesterol, especialment en la forma esterificada. Quan la síndrome nefròtica desapareix, els lípids sèrics es normalitzen del tot.

Un augment important de triglicèrids, que ocasiona una lactescència del sèrum, indica una especial severitat del trastorn lipídic.

En sis casos hem portat a terme un estudi cromatogràfic dels lípids urinaris, i hi hem observat un probable augment d'aquests mateixos lípids amb la presència d'esters de colesterol, colesterol lliure, àcids grassos lliures, fosfolípids i indicis o demostració absoluta de triglicèrids. En relació amb les lipidúries de les nefropaties, volem remarcar que les troballes de diversos patrons cromatogràfics que hem efectuat són degudes a la dificultat de l'extracció dels lípids urinaris.

IV

LIPIDÚRIES

El problema de la determinació dels lípids urinaris ha estat molt poc estudiat, tant pel que fa als nefròlegs com als bioquímics. Com a exemples d'aquesta afirmació direm que al prestigiós llibre de nefrologia que dirigeix J. HAMBURGER (ed. 1966), el tema de les lipidúries no hi és pràcticament tractat; només esmenta, a la part general, la quilúria.

Comparant els treballs de les lipidúries amb els apareguts sobre proteïnúries, ens adonem d'una extraordinària diferència quantitativa. Això és degut, a parer nostre, a tres causes: 1) importància clínica; 2) mètode de concentració i d'extracció; 3) mètode d'anàlisi. Tocant al primer aspecte, direm que la importància clínica de la proteïnúria damunt la lipidúria és molt superior, car la primera és un requisit que s'ha fet indispensable, des de fa molt de temps, per al diagnòstic de les nefropaties. Indiscutiblement, la "Síndrome proteïnúrica" és molt més important, almenys actualment, que la "Síndrome lipidúrica" a les nefropaties, puix que la primera indica una lesió del glomèrul o del túbul renal.

En el segon aspecte, els mètodes de concentració de les proteïnes urinàries són molt més simples i assequibles per a un laboratori clínic que no pas els mètodes d'extracció dels lípids. De més a més, els mètodes de concentració de les proteïnúries no són imprescindibles en el cas que només interessi una valoració quantitativa o semiquantitativa, que, això no obstant, cada dia cedeix un xic més de terreny a l'estudi electroforètic per a arribar al diagnòstic d'una nefropatia. Per contra, els mètodes d'extracció dels lípids urinaris són molt més complexos i requereixen un equip especial (Rotavapor), del qual no disposen tots els laboratoris. Podem, tanmateix, esperar que, en augmentar el nombre d'investigadors que s'ocupen del tema, aquests mètodes se simplificaran i arribaran a estar a l'abast d'un laboratori clínic modest.

El tercer aspecte —és a dir la dificultat de l'anàlisi— és condicionat, en part, pel mètode d'extracció.

Per a les proteïnúries, els mètodes analítics són summament nombrosos i extraordinàriament simples; n'hi ha prou, per exemple, amb mullar una tira de paper, preparada convenientment, amb orina del malalt, per a conèixer semiquantitativament la seva proteïnúria. Els mètodes quantitius per a l'estudi dels

lípidis són complexos i demanen un material i un personal ben preparats, i el mateix podem dir quant als mètodes qualitius, els quals, deixant de banda l'observació de gotes de greix a l'orina, són en llur majoria cromatogràfics.

A) LIPIDÛRIES FISIOLÒGIQUES

Primerament estudiarem les lipidúries fisiològiques, i després les patològiques.

Segons LAUDAT i LAUDAT, MORNER, l'any 1895, havia assenyalat la presència d'àcids grassos d'alt pes molecular a l'orina. El 1943, BLOOR estudia els lípidis urinaris i assenjala el notable augment que pot ésser observat en la síndrome nefròtica.

El 1952, KAISER i BALAT estableixen els valors normals de la colesterolúria, i n'estudien les variacions en l'embaràs i en determinades nefropaties. KING i BOYCE (1958) troben, per extracció del "sòlid no dialitzable", una lipidúria fisiològica de 15,5 mg, en 24 hores.

El 1967, CASERTANO i col·l·laboradors estudien la lipidúria fisiològica de 100 mostres d'orina, i descobreixen variacions amb l'edat, les quals resumim ací:

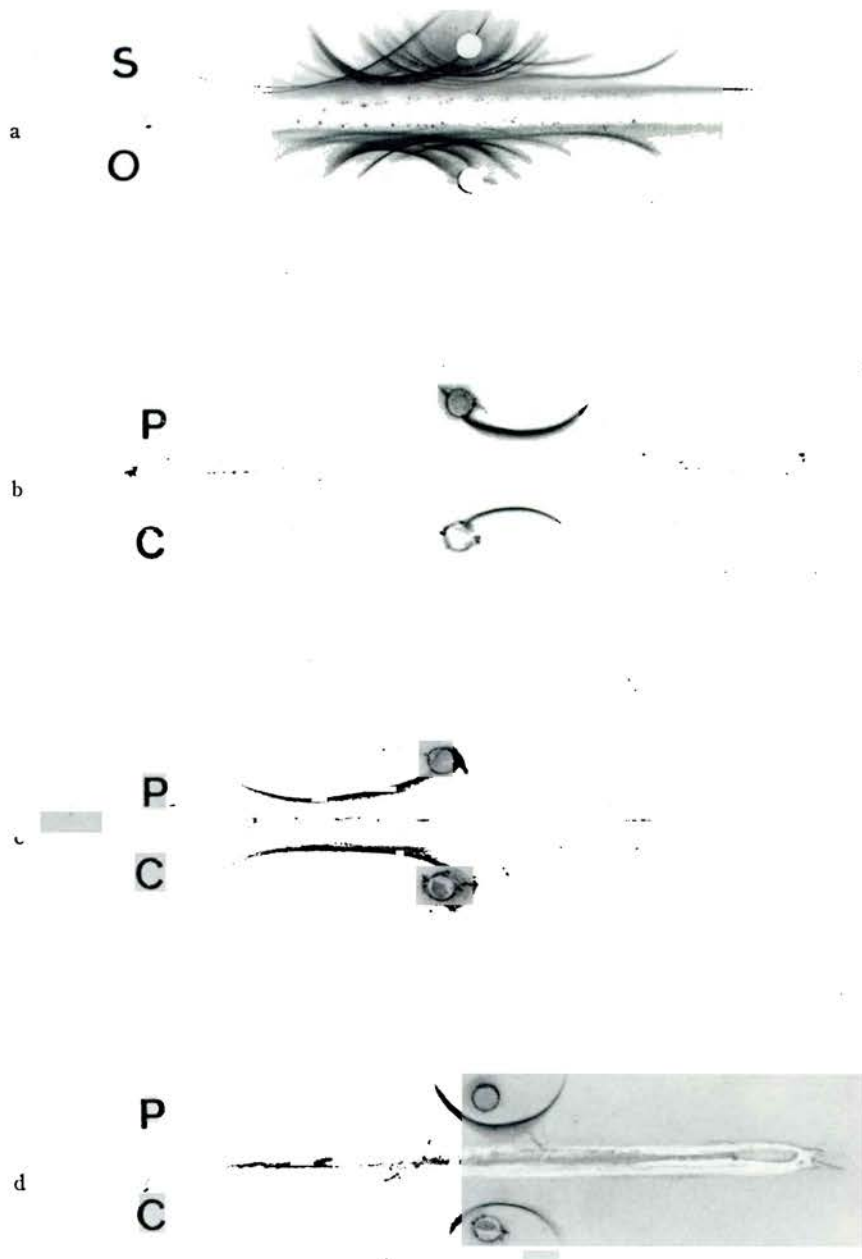
Anys	Lipidúria quantitativa	Pes mitjà mg/l
0 - 8	mín. 207 - 413	280 - 350
9 - 15	150 - 305	180 - 260
16 - 30	mín. 80 - 140	100 - 125
31 - 50	mín. 60 - màx. 100	78 - 91
51 - 70	mín. 15 - màx. 44	21 - 33
71 - 96	mín. 7 - màx. 19	10 - 15

Mitjançant cromatografia en capa fina, observem:

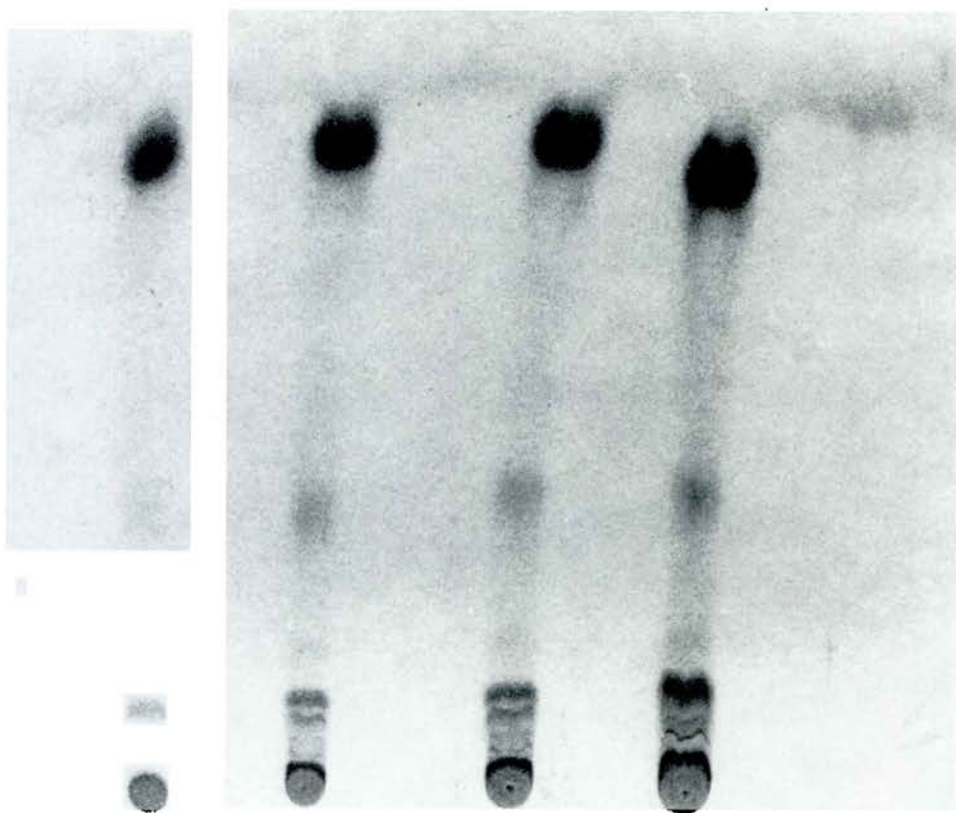
- Esters de colesterol
- Glicèrids
- Àcids grassos lliures
- Colesterol lliure
- "Fracció polar".

Amb la cromatografia en fase gasosa, estudiem la composició dels àcids grassos trobada després de la saponificació total. Oscil·la considerablement segons el subjecte i l'alimentació. La mitjana normal, expressada percentualment, és la següent:

— Àcid mirístic	1,5 - 35
— Àcid palmític	26 - 33
— Àcid palmitoleic	10 - 20



LÂM. XVI. — Immunelectroforesi. *a)* Síndrome nefrótica, S sêrum, O orina; *b)* síndrome nefrótica (sêrum), anti- α_2 -macroglobulina; *c)* síndrome nefrótica anti- α_2 -lipoproteína; *d)* síndrome nefrótica (sêrum), anti- β -lipoproteína. P, problema. C, control.



LAM. XVII. — Lipidúria fisiológica. 10-20-30 i 40 λ de l'extracte urinari obtingut segons LAUDAT.



LAM. XVIII. — Separació dels esters de colesterol d'una orina (emprant quatre concentracions distintes de l'extracte) i d'un sèrum.



LAM. XIX. — Cromatograma lipídic d'un extracte urinari, obtingut en un cas d'hiperlipèmia essencial molt accentuada. 40 i 80 lambdes de l'extracte.

— Àcid esteàric	6 - 11
— Àcid oleic	38 - 45
— Àcid linoleic	4,5 - 9
— Àcid linolènic	1,5 - 6

Segons CASERTANO i colHabs., durant el dia es produeixen fluctuacions de la lipidúria fisiològica. Pel que sembla, hom observa les taxes més elevades immediatament després dels primers menjars; en el subjecte normal, després d'un règim hiperlipèmic, hom observa un augment del 20 % en les fraccions urinàries corresponents a les hores següents als principals menjars, i disminueix en les orines recollides durant el període nocturn.

Augmenten la lipidúria les hormones lipolítiques (adrenalina, H. tiroidea, glucagon, glucocorticoides, STH, ACTH i TSH), mentre que la insulina pro-lactina i el PTH tenen acció lipogènica.

LAUDAT i LAUDAT (1968) estudien la lipidúria fisiològica en vint-i-quatre individus emprant tècniques químiques de lípids totals, colesterol total, triglicèrids, fosfolípids i àcids grassos lliures, i també mètodes cromatogràfics en capa fina. Observen els valors següents (24 hores):

	Homes (11)	Dones (13)
Lipidúries totals	11,6 ± 4,5 mg	12,8 ± 3,3 mg
Colesterol	1 ± 0,5 mg	0,9 ± 0,2 mg
Triglicèrids	1,6 ± 0,7 mg	2,1 ± 1,8 mg
Fosfolípids	4 ± 1,7 mg	5 ± 1,8 mg
Àcids grassos lliures	4,2 ± 3,3 mg	2,9 ± 2,0 mg

Ès interessant de comparar aquests valors amb els de CASERTANO i colHabs. LAUDAT creu que l'augment que aquests autors observen és degut al fet que en el mètode emprat l'orina no és dialitzada, per la qual cosa CASERTANO i colHabs. valoren, ultra els lípids, d'altres substàncies com a aminoàcides, sals, etc.

L'estudi comparatiu del repartiment de les fraccions lipídiques al plasma i a l'orina fa ressaltar la importància dels A. G. L. urinaris (40 %), si comparem llur percentatge amb el dels A. G. L. plasmàtics (2 %).

	Plasma		Orina	
	Homes	Dones	Homes	Dones
Colesterol	39,6 %	39,8 %	9,3 %	8 %
Triglicèrids	17,2 %	15,2 %	14,2 %	19 %
Fosfolípids	41,3 %	43 %	36,5 %	45,5 %
A. G. L.	1,9 %	2 %	40 %	27,5 %

LAUDAT i LAUDAT, concentrant 100 vegades l'orina, observen la presència d'una α -lipoproteïna. No observen, però, la β -lipo. Segons aquests autors, els lípids plasmàtics que es troben a l'orina són transportats per la α -lipoproteïna, a excepció dels àcids grassos lliures, que es troben, tant al plasma com a l'orina, juntament amb albúmina.

Nosaltres hem assajat nombroses tècniques (que detallem al capítol II) per a l'extracció dels lípids urinaris, i hem obtingut els resultats millors amb la tècnica de diàlisi i extracció posterior, proposada per LAUDAT.

En condicions normals (lâm. XVII), en capa fina de silicagel G i aplicant de 30 a 60 λ de l'extracte d'orina, i emprant com a solvents cloroform i benzè i tenyit amb àcid fosfomolibdic, observem a l'orina esters de colesterol, indicis de triglicèrids, colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids.

La nostra experiència, en quinze orines normals, la resumim a continuació, exposada de faisó semiquantitativa.

	30 λ	50 λ	60 λ
Esters de colesterol	++	+++	+++
Triglicèrids	\pm	+	+
Colesterol lliure	\pm	\pm	+
Àcids grassos lliures	+	++	++
Fosfolípids	++	++	++

Així mateix, hem aconseguit la separació dels esters de colesterol (lâm. XVIII). Observant esters d'àcids grassos saturats i d'àcids mono- i dienoics, hem obtingut dades coincidents amb les de CASERTANO i colHabs., els quals creuen que els àcids grassos poliinsaturats (essencials) són retinguts al plasma, mentre que els no essencials són eliminats.

Volem remarcar el fet que l'estudi de les lipidúries ofereix dificultats d'interpretació, car poden existir variacions evidents entre dos individus normals, cosa que pot ésser parcialment explicada per l'observació de CASERTANO i colHabs., els quals troben grans variacions segons el tipus d'alimentació i el temps postingesta en què ha estat recollida l'orina. Nosaltres, a més, hem observat la diferència entre dos extractes obtinguts de la mateixa mostra d'orina; creiem que el mètode d'extracció de LAUDAT, que actualment fem servir, ha d'ésser millorat en el sentit que pugui ésser obtinguda una extracció integral dels lípids urinaris.

B) LIPIDÚRIES PATOLÒGIQUES

CASERTANO i colHabs. (1967) estudien la lipidúria espontània del diabètic, i la divideixen en set grups, d'acord amb l'estat clínic del pacient. Els valors quantitius oscil·len entre 130 i 1.260 mg/litre.

Els grups establerts són:

- 1) 26 individus diabètics infantils o d'adolescència. Valor mitjà, 490 - 677 mg/litre.
- 2) 43 diabètics d'edat madura. Valor mitjà, 260 - 330 mg/l.
- 3) 14 diabètics senils. 300 - 400 mg/l.
- 4) 16 individus en estat pre-diabètic. 220 - 670 mg/l.
- 5) 5 diabètics en pre-coma. 580 - 790 mg/l.
- 6) 3 diabètics en estat de coma. 907 - 819 - 988 mg/l.
- 7) 5 síndromes de KIMMESTEL-WILSON. Valors entre 840 i 1.110 mg/l.

En resum: la quantitat de material lipídic en presència d'orines de diabètics és superior quan és comparada amb els extractes d'orines normals. Aquest augment està en relació directa amb la gravetat del cas. Qualitativament, en CCF els lípids també presenten diferències, en el sentit que la major part dels composts romanen al "spot" tot demostrant que posseeixen una polaritat elevada. Així mateix, l'eliminació d'àcids grassos instaurats és inferior en el diabètic que no en el subjecte normal, segons que es desprèn de les dades següents (expressades percentualment):

— Àcid mirístic	2 - 4
— Àcid palmític	29 - 38
— Àcid palmiloteic	12 - 24
— Àcid esteàric	8 - 13
— Àcid oleic	40 - 50
— Àcid linoleic	3 - 8
— Àcid linolènic	1 - 4.

En el diabètic, l'administració d'un règim hiperlipèmic produeix augments de lipidúries d'un 65 %, xifra molt superior a la que correspon a un individu normal (20 %).

Segons els esmentats autors, la lipidúria de la diabetis és l'espill fidedigne de l'alteració metabòlica present a la malaltia. En la diabetis hom observa un augment de lipidúria, augment ponderal dels glicèrids i els àcids grassos lliures saturats; i disminució d'àcids grassos insaturats i presència de material fortament polar. D'altra banda, en la diabetis hom observa les mateixes famílies lipídiques de la lipidúria fisiològica. La lipidúria augmenta, en el diabètic, en estats greus, pre-coma i cetoacidosi. És especialment important la hiperlipidúria a la síndrome de KIMMESTEL-WILSON: bon senyal que el ronyó hi té un paper destacat.

Dins el grup de les lipidúries patològiques podem considerar la quilúria, que és gairebé sempre conseqüència d'un obstacle en la circulació limfàtica. La seva causa més freqüent és la filariosi (HAMBURGER). La prova d'un règim pobre en greixos pot fer minvar la quilúria, però molt sovint no la fa desaparèixer del tot. Un menjar gras és mal tolerat, i exagera considerablement la quilúria.

L'examen de l'orina permet de contemplar-ne l'aspecte greixós. Glòbuls de greix poden surar a la superfície de l'orina. La lipidúria oscil·la entre 2 i 40 g

per litre. Quan deixem sedimentar l'orina, hi observem tres capes: una de superior, de greix, una de mitjana rosada, que sovint conté coàguls, i una capa inferior portadora de sang. L'addició d'èter en idèntica quantitat dissol el quilo (HAMBURGER).

Hem tingut ocasió d'estudiar personalment les lipidúries en cinc casos d'hiperlipèmies importants. En tot moment hem emprat concentracions semblants a les de l'orina normal, i hem observat una hiperlipidúria notable, amb augment d'esters de colesterol, de triglicèrids i d'àcids grassos lliures, i un discret augment de colesterol lliure, i fosfolípids (lám. XIX).

Hem estudiat també la lipidúria en dues síndromes nefròtiques, amb un augment global de totes les fraccions.

En dos malalts en els quals fou practicada una prova de metopirina, hom observà un notable augment de la lipidúria. Aquest fet, el creiem molt interessant, però requereix una comprovació.

CASERTANO i col·labs. afirmen que, tenint en compte que la mida de la molècula lipídica és d'uns 4 Å i l'ultrafiltre glomerular té uns 37 Å, sembla lògic de pensar que els lípids poden passar a través del glomèrul renal, a l'igual que d'altres molècules com ara aigua, ClNa, glucosa... LAUDAT, al contrari, creu que els lípids passen a través del filtre renal vehiculitzats amb l'alfa lipoproteïna i els àcids grassos amb l'albumina.

Nosaltres pensem, a títol d'hipòtesi de treball, que poden ésser distingits tres tipus de lipidúria:

- Lipidúria fisiològica
- Hiperlipidúria per sobrecàrrega
- Hiperlipidúria per lesió renal.

La lipidúria fisiològica és la que hom observa en condicions normals, i seria una de les vies d'eliminació dels lípids. Quantitativament, bé que no hi ha acord entre els diversos autors, no és massa important; és molt menys important que la via d'eliminació fecal, que normalment pot eliminar fins a 4 g/24 hores (segons VAN DE KAMER).

La hiperlipidúria per sobrecàrrega és observada en condicions fisiològiques després de la ingesta d'un règim hiperlipídic.

En condicions patològiques, la lipidúria pot augmentar en diabetis mel·lita greu i en hiperlipèmies essencials. Sembla lògic de pensar que en altres tipus d'hiperlipèmies també podria ésser demostrada hiperlipidúria.

Finalment, la hiperlipidúria per lesió renal és la que observem en algunes nefropaties, com, per exemple, en la síndrome nefròtica i en la de KIMMESTIEL-WILSON, bé que en aquest últim cas es podria considerar una hiperlipidúria mixta.

RESUM I CONCLUSIONS

1. En aquest treball presentem els resultats obtinguts, mitjançant tècniques cromatogràfiques en capa fina, electroforètiques i químiques, de l'estudi dels lípids urinaris i sèrics en diverses malalties. Així mateix, és presentada una revisió dels coneixements actuals del problema bioquímic dels lípids orgànics, en llurs aspectes fisiològics i patològics.

Considerades les propietats físico-químiques més importants, comunes a tots els lípids, tractem de llur classificació en lípids simples (glicèrids, cèrids, estòlids i estèrids) i lípids complexos (fosfoglicerilípids, esfingolípids, gangliòsids i sulfàtids) i derivats dels lípids (alcohols grassos i àcids grassos).

2. Els lípids que hom troba en el sèrum provenen, d'una banda, de la ingesta, i, d'altra banda, de les reaccions lipolítiques produïdes, fonamentalment, en el teixit adipós. La major part dels greixos ingerits són triglicèrids, i, secundàriament, fosfolípids i colesterol. En el duodè, els triglicèrids són emulsionats i posteriorment hidrolitzats per l'acció de les lipases pancreàtica (que actua a la llum de l'intestí) i intestinal (que exerceix una acció hidrolítica a l'interior de les cèl·lules de la mucosa). Els fosfolípids són atacats per l'acció de la lecitinasa pancreàtica. A l'interior de les cèl·lules de la mucosa, els productes finals de la digestió grassa (àcids grassos, glicerina, lisolectina i colesterol) sofreixen processos metabòlics de resíntesi, catalitzats pels enzims situats als microsomes del reticle endoplasmàtic, i es produeixen nous triglicèrids i fosfolípids, els quals, travessant la cèl·lula, es conglomeren en gotetes anomenades quilomicrons, que van per la limfa.

3. Els lípids plasmàtics no són suficientment polars per a circular en forma lliure, per la qual cosa demanen la unió amb proteïnes, i en resulten macromolècules anomenades lipoproteïnes.

Hom distingeix fonamentalment quatre grups de lipoproteïnes: α_1 , β , pre- β i quilomicrons. La α -lipoproteïna (Pm, entre 165.000 i 400.000) té una mobilitat electroforètica (paper) com la de les α_1 -globulines, i és composta per 30 % de fosfolípids i 18 % de colesterol i 44-55 % de proteïna. La β -lipoproteïna (Pm, $1,3-3,2 \times 10^6$) conté 20-25 % de proteïna, 8 % de colesterol lliure, 35 % de co-

lesterol esterificat, 22 % de fosfolípids i 10 % de triglicèrids (FREDRICKSON i coHabs.). La lipoproteïna pre- β , sintetitzada al fetge, vehiculitza els triglicèrids de síntesi endògena. Els triglicèrids de procedència intestinal van lligats als quilomicrons. Finalment, els àcids grassos lliures van lligats a l'albumina. En resum, hi ha tres formes de transports dels lípids plasmàtics: a) els lípids de procedència exògena, que circulen en forma d'emulsió, amb els quilomicrons; b) els de procedència endògena, que formen un complex macromolecular amb alguna lipoproteïna, que, segons la mobilitat electroforètica, es divideixen en alfa, beta i pre-beta; c) els àcids grassos lliures, de procedència endògena, que van lligats a l'albumina (lipoalbumina).

4. Els lípids a nivell cel·lular exerceixen un paper important en la formació de les membranes cel·lulars.

Aquestes membranes són formades per una doble capa lipoproteica, en la qual els grups hidròfils (OH) de la lecitina serviran d'unió entre les cadenes lipòfiles dels àcids grassos i les cadenes hidròfiles dels pèptids (DE ROBERTIS). Una especialització de l'estructura lipoproteica de la membrana cel·lular és la beina de mielina que envolta l'àxon de la fibra nerviosa. Una altra disposició especial de les capes lipoproteiques és la que es presenta en l'estructura de cons i de bastons retinians, la missió dels quals és la fotorecepció.

5. Mitjançant cromatografia en capa fina (CCF) pot ésser demostrada la presència d'un patró lipídic propi de cada teixit. Mentre que en el teixit adipós hi ha una concentració important de triglicèrids, en el sistema nerviós observem una gran quantitat de fosfolípids i esfingolípids, dels quals, per la tècnica de JATZKEWITZ, hom aconsegueix de separar 2 cerebròsids, etanolaminafosfàtid, 2 sulfàtids, colínfosfàtid, etanolominolisofosfàtid, 2 esfingomielines, colínlisofosfàtid, serínfosfàtid i 2-3 gangliòsids.

Hem efectuat, així mateix, un estudi dels lípids de distints aliments, com ara mantegues, olis, llets i carns. La cromatografia en capa fina, creiem que té un extraordinari interès per a estudiar qualitativament la composició lipídica d'un aliment determinat.

6. En l'aspecte cromatogràfic, els nostres resultats es basen en quatre tipus de desenrotllaments distints, que ens han permès la separació en sèrum de 16-20 composts diferents. La separació dels lípids en grups, l'efectuem damunt plaques de silicagel G, amb uns solvents de cloroform-benzè (3:2); temps de desenrotllament, 45 minuts; tenyit amb solució alcohòlica d'àcid fosfomolibdic, 10 %. Aconseguiu la separació d'esters de colesterol (R_f 12,4/16), triglicèrids (9,3/16), colesterol lliure (3,5/16), àcids grassos lliures (1,1/16) i fosfolípids (0). Eventualment, aconseguirem, de més a més, de separar esqualè, mono- i diglicèrids.

Els esters d'àcids grassos de colesterol se separen entre ells mitjançant quatre elucions de 10 cm cada vegada, i eixugant-les cadascuna amb aire calent, emprant 2 i 5 λ de l'extracte clorofòrmic-sèric, amb èter de petroli (60-80) i cloroform (90/10). El temps de cada elució és de 25 minuts. Se separen: l'estereat

i el palmitat (recorregut, 3-4 cm), l'oleat (3 cm), el linoleat (2,3 cm), el linolenat (2 cm) i l'araquidonat (1-2 cm) de colesterol.

Els fosfolípids sèrics, aconseguim de separar-los amb cloroform-metanol-aigua-àcid acètic (60/30/6/1); recorregut, 15 cm; temps, 30 minuts. Se'n separen cefalina (Rf 8,4/14), lecitina (5,2/14), esfingomielines (3,6/14) i lisolecitina (3,3/14). Per a la separació dels fosfolípids i dels esfingolípids cal emprar la tècnica de JATZKEWITZ, amb desenrotllaments, el primer (cloroform-metanol-aigua) de 20 cm, i el segon (propanol-amoniac-aigua) de 9 cm; tenyit, reactiu de KÄGI-MISCHER.

Podem separar els triglicèrids per mitjà de silicagel impregnat de nitrat de plata al 12,5 % (cromatografia en fase invertida); solvent, benzè; recorregut, 15 cm; temps, 15-20 minuts. Aconseguirem la separació de 5-6 triglicèrids en sèrum, els quals no hem pogut, per ara, identificar. Segons MICHALEC i col·labs., els triglicèrids presents en sèrum són trilinoleïna, oleodilinoïna, linoleodilinoïna, trioleïna i un triglicèrid no identificat.

Amb aquestes tècniques hem aconseguit, emprant extraccions escaients, la separació de lípids en sèrum, orina, saliva, excrements, semen, suc gàstric, bilis, líquid cèfalo-raquidi, líquid ascític i líquid pleural; així mateix, en teixits renal, hepàtic, muscular, cerebral i adipós.

7. L'extracció dels lípids urinaris presenta nombrosos problemes; talment, que diversos autors que s'han ocupat del tema presenten una considerable diferència en les xifres de la lipidúria fisiològica, a causa, fonamentalment, de l'ús de diversos mètodes d'extracció. Nosaltres hem assajat uns quants mètodes: a) extracció semblant a la del sèrum, emprant 32 cc d'orina, en comptes de 2 cc, com en el cas del sèrum; b) concentració prèvia de l'orina, amb Rotavapor; 125 cc d'orina filtrada, queden reduïts a 5, i posteriorment portem a terme una extracció amb cloroform-metanol idèntic al mètode anterior; c) ús d'un extractor líquid-líquid (POWELL, mod. 636/4), i com a dissolvent, el cloroform. Evaporació a sequedat de l'extracte clorofòrmic i redissolució posterior; d) extracció, agitant 50 cc d'orina amb diversos dissolvents dins un embut de decantació. Els dissolvents emprats han estat èter de petroli, èter etílic i cloroform. L'extracció més bona ha estat obtinguda amb cloroform, i segueix l'efectuada amb èter de petroli, i, finalment, la d'èter etílic; e) mètode de LAUDAT, consistent a dialitzar 250 ml d'orina, enfront d'aigua destil·lada, durant 24 hores a 4° C. Doble extracció amb cloroform-metanol. Decantació de l'extracte orgànic recollit i evaporació a sequedat. Redissolució amb 2 cc de cloroform-metanol. Amb el mètode de LAUDAT hem obtingut els millors resultats, seguit dels mètodes b), agitació amb cloroform, i c), extractor líquid-líquid. Amb aquell mètode hem dut a terme les nostres investigacions cromatogràfiques relatives a les lipidúries.

8. Han estat separades les lipoproteïnes sèriques mitjançant electroforesi damunt paper WHATMAN 3 M M i SCHLEICHER-SCHÜLLER 2.043, emprant la tècnica del pre-tenyit amb "Noir au gras", en solució alcohòlica. Dipositem 80 λ de sèrum tenyit, damunt paper, aplicant un 180 V durant 4-5 hores. Aconseguim una separació perfecta de α -lipoproteïna, β -lipoproteïna, quilomicrons i, ocasionalment,

pre- β -lipoproteïna. Podem aconseguir una separació més gran d'aquesta darrera diluint en el tampó barbital (pH 8,6. Fi 0,1) un 1 % d'albumina humana o bovina (FREDRICKSON i coHabs., 1967).

Així mateix es presenten els resultats de les immunoelectroforesis sèriques i urinàries efectuades en distintes hiperlipèmies essencials i secundàries.

Ha estat emprat el micromètode de SCHEIDEGGER amb agar purificat (Rein agar o agarosa), 1 % tamponat amb solució de veronal àcid-veronal sòdic (pH 8,6. Ji 0,05) o veronal sòdic-àcid clorhídric (pH 8,6). Els antisèrums emprats han estat de cavall, antiseroproteïnes humanes i de conill anti- α -lipoproteïna i anti- β -lipoproteïna (BEHRINGWERKE).

9. En l'estudi de les displipèmies o hiperlipoproteïnes té un gran interès la classificació de FREDRICKSON i coHabs. en tipus. La hiperlipoproteïnèmia tipus I es caracteritza per la presència de quilomicrons en plasma 14 hores després de la ingestió d'una dieta normal; l'aspecte del sèrum és lletós, i la hipertriglicèridèmia és molt important. En el tipus II observem un augment de β -lipoproteïnes de mobilitat normal i hipercolesterolèmia, i els triglicèrids són normals o discretament augmentats. En el tipus III, el sèrum es tèrbol, augmenten les lipoproteïnes de densitat anormalment baixa, augmenta el colesterol i, en un grau inferior, augmenten els triglicèrids. El tipus IV es caracteritza per hiperprebetalipoproteïnèmia, normalitat de α - i β -lipoproteïnes i absència de quilomicrons. Aquest tipus s'identifica amb la hiperlipèmia induïda per glicids. En el tipus V observem quilomicrons i hiperprebetalipoproteïnèmia.

La CCF té un notable interès per al diagnòstic de les lipidosi, malalties provocades per una acumulació de lípids tissulars. Fragments obtinguts per biòpsia de diversos teixits són tallats per mitjà del criostat (25 micres) i dipositats damunt un portaobjectes (KARCHER). Hi afegim 0,1 cc de cloroform-metanol 2-1, i, després d'agitar-ho, en prenem extracte lipídic i en dipositem 10 λ damunt una placa cromatogràfica de silicagel. Mitjançant el mètode de JATZKEWITZ podem demostrar, en biòpsies cerebrals, l'acumulació de gangliòsids (TAY-SACHS), sulfàtids (Leucodistrofia metacromàtica), esfingomielina (NIEMANN-PICK), cerebròsids (GAUCHER); de la mateixa manera podem observar l'acumulació de fitanat de colesterol en la malaltia de REFSUM, i de colesterol i triglicèrids en la de WOLMAN.

10. Mitjançant mètodes cromatogràfics, electroforètics i químics, hem tingut ocasió d'estudiar nou casos d'hiperlipèmies essencials, vuit de les quals corresponien als tipus IV i V, i una al tipus II de FREDRICKSON i coHabs.

En els primers, l'aspecte del sèrum era lletós, amb uns lípids sèrics oscil·lant entre 2.000 i 8.000 mg %. Colesterol lleugerament augmentat en algun d'ells. En el lipidograma, gran zona de quilomicrons i discret augment de β -lipoproteïnes. En la immunoelectroforesi, sense tenyir, observem una zona blanca al punt de dipòsit; amb l'ús de sèrums de conill anti- β -lipoproteïnes fou demostrat un lleuger augment de la β -lipoproteïna del problema en relació amb el control. En el cromatograma de lípids neutres fou demostrat, en la majoria, un extraordinari augment

de triglicèrids, un notable augment d'àcids grassos lliures i un lleuger augment d'esters de colesterol. En el cromatograma d'esters de colesterol observarem un lleuger augment d'esters saturats i dels àcids mono-, di- i trienoics. En el desenrotllament de fosfolípids observem un notable augment de lecitina i un augment menys important de lisolecitina i d'esfingomielina.

En el cas catalogat com a hipercolesterinèmia familiar (tipus II) observem, en el desenrotllament de lípids sèrics neutres, un augment d'esters de colesterol, de triglicèrids i de colesterol lliure. En aquest cas hem efectuat estudis de lípids de saliva, orina i excrements.

11. Són presentats els estudis del metabolisme lipídic realitzats en deu casos de diabetis greus. En un primer grup observem exclusivament hipertriglicèridèmia, amb normalitat de les altres fraccions lipídiques.

En un segon grup de diabètics en estat de coma, resolt favorablement, observarem, en una primera extracció, una hiperlipèmia global, que abraça esters de colesterol, triglicèrids, colesterol lliure, àcids grassos lliures i fosfolípids; en una segona extracció, efectuada al cap de vint-i-quatre hores de la primera, el patró lipídic sèric pogué ésser considerat pràcticament normal.

Finalment, en un tercer grup de diabètics en estat de coma, acabat amb èxitus, el patró lipídic sèric, corresponent a una hiperlipèmia global, no varià gens ni mica.

L'aplicació de la CCF en les dislipèmies diabètiques té un gran interès, car permet d'observar el patró lipídic sèric i urinari, el primer dels quals oscil·la des de la hipertriglicèridèmia fins a la hiperlipèmia global en relació directa amb l'estat clínic metabòlic del malalt. Així mateix, permet de portar a terme estudis comparatius sobre les variacions d'aquest patró lipídic en distints estudis del curs de la malaltia.

12. Hem estudiat els lípids sèrics en quatre casos de cirrosis hepàtiques, dos de síndrome de DUBIN-JOHNSON, un de cirrosi biliar i un altre d'icterícia obstructiva de llarga durada. En la cirrosi hepàtica i en la icterícia de DUBIN-JOHNSON, les alteracions dels lípids sèrics foren nul·les o mínimes. Per contra, en la cirrosi biliar obtinguérem una notable hiperlipèmia (1.490-1.350-1.690) i hipercolesterolemia (495-820-880), respectivament, i observarem, al cromatograma de lípids, un gran augment d'esters de colesterol, de colesterol lliure i, en menor quantitat, de triglicèrids.

En el cas d'icterícia obstructiva de llarga durada fou observat el conegut fenomen de l'"esfondrament dels esters de colesterol", demostratiu del fracàs de la funció esterificant del fetge, que es caracteritza per una més gran proporció en sèrum de colesterol lliure en relació amb l'esterificat, mentre que en condicions normals la fracció esterificada constitueix més del 65 % del colesterol total.

13. Han estat practicats estudis del metabolisme lipídic a dotze malalts afectats de síndrome nefròtica, amb un total de vint-i-dues investigacions. En la major part dels casos, la dislipèmia acompanya el trastorn proteic, i és tant més intensa com més gran és el trastorn clínic. L'alteració proteica es tradueix

en sèrum per una disminució d'albumina i de globulina gamma, i un augment de α_2 -globulina. A l'orina observem una imatge inversa, amb notable albumina, α_1 superior a α_2 , globulines β molt importants i absència de gamma (proteïnúria de filtració selectiva). Amb les tècniques d'immunolectroforesi damunt gel d'agar es demostra en sèrum un augment de α_2 -macroglobulina i de β -lipoproteïna, fonamentalment. A l'orina observem la presència d'albumina, α_1 -antitripsina, haptoglobulina, α_1 -lipoproteïna, ceruloplasmina, transferrina i IgA i IgG. Ocasionalment podem apreciar indicis de α_2 -macroglobulina, segons el grau de lesió glomerular. En concentracions de 30 g/l no observem mai la presència d'IgM ni de β -lipoproteïna.

Mitjançant cromatografia en capa fina en síndrome nefròtica en fase inicial observem una hiperlipèmia important, i augmenten especialment els esters de colesterol, el colesterol lliure i els fosfolípids. Els triglicèrids apareixen especialment en aquells casos amb un trastorn notable del metabolisme lipídic, i són responsables de l'aparició d'un sèrum lletós.

La millora del quadre clínic i del quadre proteic sèric i urinari va acompanyada d'una minva de la hiperlipèmia, i obtenim taxes i cromatogrames lipídics normals, de vegades abans de la desaparició de la proteïnúria. En d'altres casos la normalització del trastorn lipídic és més tardana.

La fisiopatologia de la dislipèmia de la síndrome nefròtica és fosca. Han estat proposades tres hipòtesis per tal d'explicar-la (HAMBURGER): a) conseqüència de la hipoalbuminèmia plasmàtica; b) hiperlipèmia sèrica d'origen extraplasmàtic procedent d'alteracions del metabolisme lipídic a nivell adipós; c) conseqüència de la lesió renal, que permetria un pas més notable de proteïnes i de lípids a través del glomèrul.

14. Són presentats els resultats de les investigacions cromatogràfiques efectuades en extractes de lípids urinaris. És proposada la classificació, a títol d'hipòtesi de treball, de les lipidúries en tres grups: a) lipidúries fisiològiques; b) lipidúries per hiperlipèmia (metabòliques); c) lipidúries per lesió renal.

a) Les lipidúries fisiològiques són les que hom observa en l'individu normal, en condicions basals. No hi ha cap acord sobre els valors que cal acceptar com a normals. D'una banda, CASERTANO i col·l. (1967) demostren l'existència de variacions quantitatives en relació amb l'edat, acceptant com a lipidúria fisiològica, en individus de 16-30 anys, una mitjana de 100 a 125 mg/l. D'altra banda, LAUDAT i LAUDAT (1968) accepten com a lipidúria fisiològica valors d' $11,6 \pm 4,5$ mg/24 hores en el mascle, i de $12,8 \pm 3,3$ mg/24 hores en la femella.

L'extraordinària diferència entre uns autors i uns altres és deguda, sense cap mena de dubte, al mètode d'extracció emprat, dels quals, en principi, sembla més correcte el de LAUDAT i LAUDAT. Aquests autors, fraccionant els lípids urinaris, troben valors de colesterol de $1 \pm 0,5$ al mascle i $0,9 \pm 0,2$ mg/24 hores en femelles; triglicèrids, $1,6 \pm 0,7$ (M) i $2,1 \pm 1,8$ (F); fosfolípids, $4 \pm 1,7$ (M) i $5 \pm 1,8$ (F); àcids grassos lliures, $4,2 \pm 3,3$ (M) i $2,9 \pm 2,0$ (F) mg/24 hores.

Personalment, per mitjà de CCF d'extractes lipídics de 15 orines normals,

observem esters de colesterol, àcids grassos i fosfolípids, i també indicis de colesterol lliure i de triglicèrids. La separació dels esters de colesterol de l'extracte urinari demostra la presència d'esters d'àcids grassos saturats monoenoics i dienoics, observació que lliga amb les de CASERTANO i coHabs., els quals afirmen que l'organisme reté els àcids grassos poliinsaturats, puix que no els pot sintetitzar (àcids grassos essencials).

Segons CASERTANO i coHabs., hi ha fluctuacions de la lipidúria fisiològica durant el dia. Pel que sembla, les taxes més elevades són observades immediatament després dels primers menjars, de manera que en el subjecte normal, sotmès a un règim hiperlipèmic, podria augmentar en un 20 %. Aquesta lipidúria post-ingesta minvaria en l'orina en el curs del període nocturn.

b) Les lipidúries per hiperlipèmia es produïrien en els augments de la taxa lipídica plasmàtica. Personalment, en l'estudi dels extractes lipídics de l'orina, en nou casos d'hiperlipèmia essencial tipus I (FREDRICKSON) hem observat augment d'esters de colesterol, colesterol lliure, àcids grassos lliures, fosfolípids i, especialment, triglicèrids. Aquesta és la fracció que crida l'atenció d'una manera més acusada, puix que en la lipidúria fisiològica, a les concentracions que fem, només n'observem lleugers indicis.

CASERTANO i coHabs. estudien la lipidúria espontània del diabètic els valors del qual oscil·len entre 130 i 1.260 mg/l, aquest augment essent en relació directa amb la gravetat del cas. Segons aquests autors, la lipidúria del diabètic seria un fidel mirall de l'alteració metabòlica present en la malaltia. La hiperlipidúria seria conseqüència de la hiperlipèmia i produiria un augment d'àcids grassos saturats; la hipergliceridèmia seria responsable de la hipergliceridúria, i, finalment, la hiperfosfolipèmia ocasionaria hiperfosfolipidúria. La lipidúria en diabètics augmentaria en pre-coma, coma i cetoacidosi. Especialment important és la hiperlipidúria observada pels autors en la síndrome de KIMMESTIEL-WILSON, la qual, segons la nostra classificació, inclouriem en un tipus mixt, atès que hi farien un paper patogènic important dos factors distints: la hiperlipèmia i la lesió renal.

c) Lipidúries per lesió renal. Són les que observem en determinades nefropaties, com ara la síndrome nefròtica. Hem estudiat, amb CCF, extractes urinaris de malalts afectats de síndrome nefròtica, i també la nefropatia lúpica, i hi hem observat un augment d'esters de colesterol, de triglicèrids i de colesterol lliure.

Com a final d'aquestes conclusions comentarem, a la llum dels nostres coneixements, en condicions fisiològiques i patològiques, la significació de la lipidúria.

Els lípids ingerits en la dieta són hidrolitzats a l'intestí i resintetitzats a les cèl·lules de la mucosa, vehiculitzats en llur majoria amb els quilomicrons per via limfàtica, i incorporats als teixits mitjançant reaccions metabòliques que reben globalment el nom de lipogènesis. En el teixit adipós s'alliberen alguns lípids mitjançant reaccions lipolítiques, que passen a la sang vehiculitzats amb les α -lipoproteïnes, β -lipoproteïnes, pre- β -lipoproteïnes i albúmina (àcids grassos lliures).

Els lípids plasmàtics poden ésser eliminats, en part per via intestinal, i en menor proporció per via urinària. Els lípids travessen el filtre renal per dos possibles procediments: a) tenint en compte que la mida de la molècula lipídica és d'uns 4 Å i que l'ultrafiltre glomerular té uns passos de 37 Å, sembla lògic que els lípids puguin passar a través del glomèrul a l'igual que d'altres molècules, com ara l'aigua, Cl, Na, glucosa... (CASERTANO); b) LAUDAT accepta el pas dels lípids a través del glomèrul, juntament amb la α -lipoproteïna o amb l'albumina. El primer procediment ens podria servir per a explicar les hiperlipidúries de les hiperlipèemies, mentre que el segon ens donaria l'explicació de les lipidúries de les nefropaties.

De més a més, la lipidúria seria sotmesa a influències hormonals, i augmentaria per les hormones lipolítiques (adrenalina, H tiroidea, glucagon, glucocorticoides, STH, ACTH, TSH), mentre que les hormones lipogèniques (insulina, prolactina) la minvarien.

Ara per ara, l'estudi de la lipidúria no té pas el mateix interès clínic que la proteinúria. El seu estudi és solament a les mans de laboratoris molt especialitzats, per tal com els mètodes són difícils i demanen un instrumental costós. Creiem, això no obstant, que d'ací a alguns anys, tal com ha passat en el cas de les proteinúries, quan hauran estat desenrotllades altres tècniques més a l'abast del laboratori clínic, l'estudi dels lípids urinaris pot convertir-se en una dada bioquímica important, potser fonamental per al diagnòstic i la classificació d'una nefropatia determinada.

BIBLIOGRAFIA

- ADRIAENSSENS, K.; LÖWENTHAL, A.; KARCHER, D.; MARDENS, Y.; VAN SANDE, M., and VAN HEULE (1967): *Biochemical Screening methods for biopsies*. Some results of lipid, protein and aminoacid determinations. In *Cerebral lipidosis II*. Edited by Nunes Vicente, Dustin, P. and Löwenthal, A. Presses académiques Européennes. Bruxelles.
- ALBERCA LORENTE, R. (1967): *Síndromes neuropsíquicos en los trastornos congénitos del metabolismo*. Monografías Liade. Barcelona.
- BLATON, V.; PEETERS, H.; DE KEERSGIETER, W.; DEDERG, B.; DEPICKERE, D., and VANDAMME, D. (1965): *Differential fatty acid composition of and lipoproteins*. Protides of the biological fluids. 13th. Colloquium. Edited by H. Peeters. Ed. Elsevier.
- BOBBITT JAMES, M. (1963): *Thin-Layer Chromatography*. Reinhold Publishing Corporation.
- BOBERG, J., and CARLSON, L. A. (1965): *Some physiological and pathological factors affecting the plasma lipoproteins*. Protides of the biological fluids. 13th. Colloquium ed. by H. Peeters. Ed. Elseviers.
- CARTON, M.; DESEYROUX, T. M., et DOUSTE-BLAZY (1968): *Variations des Lysolecithines sanguines dans la nephroanemia du nourrisson*. Clin. Chim. Acta 21, 79-84.
- CASERTANO, F.; MARONI, G.; FEDELI, E., i LANZANI, A. (1967): *La lipidurie du diabète sucré*. Journées de Diabetologie de l'Hôtel Dieu. Paris, Editions Médicales Flammarion.
- CHRISTOPHE, A., and MATTHIJS, F. (1967): *New Method for the determination of the fatty acid pattern of serum lipid classes*. Clin. Chim. Acta 16, 39-43.
- CLAUDE, J. R. (1967): *L'analyse des sterols des milieux biologiques par chromatographie en couche mince et par chromatographie en phase gazeuse*.
- COEUR, P., et CREUSSEL, R. (1965): *Chromatographie des lipides sériques sur couche mince de sicile. Technique de routine sémi quantitative*. Rev. Franç. d'Ét. Clin. et biol. X, 852.
- DAVENPORT, H. W. (1968): *Fisiología de la digestión*. Segona edició. Editorial Interamericana, S. A.
- DEREUX, L.; LÖWENTHAL, A.; MARDENS, Y.; and KARCHER, D. (1969): *Phytanic acid levels in serum and central nervous system in Resum disease*. Path. europ. vol. 3, 468-473.
- DE ROBERTIS, E. D. P.; NOWINSKI, W. W., y SÁEZ, F. A. (1960): *Citología General*. 4.ª ed. El Ateneo. Buenos Aires.
- DEY, M. J. (1962): *L'absence congénitale de β lipoprotéines*. Bul. et Mem. Soc. Med. des Hôp. 4, 265-278.
- Documenta Geigy. Tablas Científicas*. 6.ª ed. Publicat per J. R. Geigy, S. A. Basilea, 1965.
- ESPADALER MEDINA, J. M.* (1967): *Aspectos etiopatogénicos de las neuropatías metabólicas*. (Symposium monográfico organitzat pel Servei de Neurologia de l'Hospital de la Creu Roja de Barcelona.) Monografías Liade.

- FARRERAS, PEDRO (1968): *Medicina Interna*. 7.ª ed. Ed. Marín. Barcelona.
- FAURE (1963): *Les lipides techniques de laboratoire*. J. Loiseau. Tom. I. Fascicule I. Masson Ed.
- FORD, FRANK, R. (1966): *Enfermedades del sistema nervioso en la infancia, niñez y adolescencia*. Editorial "La Médica". Rosario (República Argentina).
- FREDRICKSON, D. S.; LEVY, R. I., and LEES, R. S. (1965): *Fat transport and polypeptides*. Protides of the biological fluids 13th. Colloquium. Ed. by H. Peeters. Elsevier.
- FREDRICKSON, D. S., y THORN, W. G. (1965): *Xantomatosis y lipoidosis*, en *Tratado de Medicina Interna*, de T. R. Harrison. La Prensa Médica Mexicana.
- FREDRICKSON, D. S. (1967): *Classification and features of the lipoidosis affecting the nervous system. Cerebral lipoidosis*, II, 7-28. Presses Académiques Européennes. Bruxelles.
- FREDRICKSON, D. S.; LEVY, R.; LEES, R. S. (1967): *Fat Transport in Lipoproteins. An integrated approach to mechanisms and disorders*. New England Journal of Medicine. 276, 32-44, 94-103, 148-226, 273-281.
- FREY-WISSLING, A. (1956): *Morfología submicroscópica del protoplasma*. Revista de Occidente. Madrid.
- GABL, F., and WACHTER, R. (1965): *Lipoprotein-electrophoresis as a screening test in clinical lipid research*. Protides of the biological fluids. Ed. by E. Peeters. E. Elsevier.
- GIRAD, M. L. (1967): *Exploitation des résultats de l'électrophorèse par l'analyste et le clinicien*. Problèmes actuels de biochimie appliquée. Première série. Masson et Cie. Editeurs.
- GOCHI MENDIZÁBAL, J. M. (1965): *La obesidad*. Monografías Roche. Madrid.
- GRABAR, P., and BARTIN, P. (1964): *Immuno-electrophoretic analysis*. Ed. Elsevier.
- GRAS, J. (1967): *Proteínas plasmáticas*. Ed. Jims.
- GUAZZI, G. C.; MARTIN, J. J.; PHILIPPART, M.; ROELS, H.; VAN DER EECKEN, H.; VRIJTS, L.; DELBEKE, M. J.; HOOFT, C. (1968): *Wolman's Disease*. European Neurology. Vol. I, n.º 6. 334-362.
- HAGES, T. L.; FREEMAN, N. K.; LINDGREN, F. T.; NICHOLS, A. V.; BIERMAN, E. L. (1965): *Some physical and chemical aspects of the structure of the very low density serum Lipoproteins*. Protides of the biological fluids. 13th. Colloquium. Ed. by H. Peeters. Elsevier.
- HOOGHWINKEL, G. J. M.; BORRI, P. F.; RUYS, J. H., and ROOIJ, R. E. (1965): *Changes in plasma lipid patterns in Hypo and Hyperlipemic diseases*. Protides of the biological fluids. Ed. by E. Peeters. Ed. Elsevier.
- JATZKEWITZ, H. (1964): *Eine neue Methode zur quantitativen Ultramikrobestimmung der Sphingolipide aus Gehirn*. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie; Band 336, 25-39.
- JATZKEWITZ, H. (1963): *The Role of Cerebroside Sulphuric Esters in leucodystrophy and a New Method for the Quantitative Ultramicrodetermination of the Brain Sphingolipids*. Brain lipids and lipoproteins and the leucodystrophies. Edited by J. Folch-Pi au H. Bauer. Elsevier. P. Company.
- JATZKEWITZ, H., und EHRENFRIED MEHL (1960): *Zur Dünnschicht-Chromatographie der Gehirn-Lipide, ihrer Um- und Abbauprodukte*. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie; Band 320, 251-257.
- JATZKEWITZ, H.; PILZ, H., und HÖLLANDER, H. (1964): *Biochemische und vergleichende histomische Untersuchungen in umschriebenen Gebieten Gehirns bei Fällen von adulter und infantiler metachromatischer Leukodystrophie*. Acta Neuropathologica 4, 75-89.
- KARCHER, D.; MARDENS, Y.; FADILUĞLU, M. (1969): *Cholesterol ester dahten in normal and Pathological Brains*.
- KIRCHNER, JUSTUS G. (1967): *Thin-layer chromatography*. Interscience publishers. New York-London.

- KLEINE, V. (1967): *Studies on the lipid metabolism of villi of nature human placentas*. Clin. Chim. acta 17, 95-98.
- KRANS, TH., und HIDE, K. (1965): *Zur Struktur der Lipoproteine*. Protidides of the biological fluids. 13th. Colloquium 1965. Ed. by H. Peeters. Ed. Elsevier.
- LAPRESLE, JEAN (1967): *Lésions de la substance blanche au cours des lipidoses du système nerveux*. Symposium monogràfic organitzat pel Servei de Neurologia de l'Hospital de la Creu Roja de Barcelona. Monografias Liade.
- LAUDAT, M. E., et LAUDAT, PH. (1968): *Les lipides urinaires*. Rev. Franç. d'Et. Clin. et Biol. XIII, 168-172.
- LINDGREN, F. T., i NICHOLS, A. V. (1960): *Structure and function of human serum lipoproteins in the plasma* Proteins. Vol. 2. Edited by F. W. Patnam. Pàgs. 2-52.
- LÖWENTHAL, A.; VAN SANDE, M. (1969): Comunicació personal.
- MAHADEVAN, V. (1967): *Thin-Layer Chromatography of neutral Glycerides in lipid chromatographic analysis*. Ed. G. Marinetti. Marcel Dekker, Inc. New York.
- McKENZIE, I. F. C., and NESTEL, P. F. (1968): *Studies on the turnover of triglyceride and Esterified Cholesterol in Subjects with Nephrotic Syndrome*. The Journal of Clin. Invest. 47, 1685-1695.
- MARINETTI GUIDO, V. (1967): *Lipid chromatographic analysis*. Volum I, Marcel Dekker. Inc. New York.
- MEDGYESI, G.; HOLLAN, S. R.; BERZY, I., and LELKES, G. (1965): *Lipid changes induced by repeated blading*. Protides of the biological fluids. Ed. by E. Peeters. Ed. Elsevier.
- MILLER, A. L. (1968): *Clinical interpretation of electrophoretic patterns*. Chromatographic and electrophoretic techniques. Vol. II. Ivor Smith. Ed. William Heinemann.
- MÜLDNER, H. G.; WHERRET, J. R., and CUMINGS, J. N. (1962): *Some Applications of thin Layer Chromatography in the Study of Cerebral Lipids*. Journal of Neurochemistry. Vol. 9, pàgs. 607-611.
- NAKAGAMA, F., and KAWAMARA, S. (1967): *Composition of biliary lecithins*. Clin. Chim. acta 17, 53-58.
- ONCLEY, J. L. (1963): *Lipid Protein Interactions in Brain Lipids and Lipoproteins, and the leucodystrophies*. Edited by J. Folch-Pi and H. Bauer. Elsevier P. Company.
- PADLEY, F. B. (1964): *Thin-Layer Chromatography of lipids*. Thin-Layer Chromatography. Ed. by G. B. Marini-Bettolo. Ed. Elsevier publishing Company.
- PASCUAL-LEONE, A. (1968): *Arteriosclerosis: Aspectos etiopatogénicos*. Mesa Redondz. sobre Arteriosclerosis. València. Febrer 1968.
- PEZOLD, F. A. (1965): *Biochemical aspects and clinical facts in the lipoprotein field in Protides of the biological fluids*. Colloquium. Edited by H. Peeters. Elsevier.
- PFÄNDLER, V. (1968): *Enfermedades del metabolismo. Genética humana*. Tomo III/1. Direcció P. E. Becker. Ed. Toray. Barcelona.
- RANDERATH KURT (1964): *Chromatographie sur couches minces*. Ed. Gauthier Villars. Paris.
- SCHETTLER, G. (1967): *Lipids and Lipidoses*. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York.
- SCHÜLLER PÉREZ, A.; JELAVIC DUSKO (1968): *Lípidos plasmáticos. Algunos aspectos bioquímicos y patológicos*. Editado por Infar-Natterman.
- SCHULZE, G. (1968): *Metabolismo de las grasas y lípidos en diagnóstico bioquímico de las enfermedades internas*, dirigido por Schoen y Südhof. Ed. Científico-Médica. Barcelona.
- SCHULTZE, H. E., i HEREMANS, J. F. (1966): *Molecular Biology of human proteins*. Volume I. Elsevier Publishing Company.
- SEGURA CARDONA, R. (1968): *Nociones de fisiología*. Imprenta Socitza. Barcelona.

- SMITH, R., and WHITE, H. (1968): *Neutral lipid Patterns of normal and Pathologic Nervous Tissue*. Archives of Neurology 19, 54-59.
- STANBURY, J. B.; WYNGAARDEN, J. B., i FREDRICKSON, D. S. (1963): *Metaboloopatias hereditarias*. Salvat Editores, S. A., Barcelona.
- STÖRIKO, K.; FISHER, G. B. (1965): *Immunological investigations on low density lipoproteins*. Protides of the biological fluids 13th. Colloquium. Ed. by H. Peeters. Ed. Elseviers.
- STROHECKER, R., i HENNIG, H. M. (1967): *Análisis de vitaminas*. Editorial Paz Montalvo. Madrid.
- THANNHÄUSER, S. J. (1961): *Lipidosis. Transtornos bioquímicos en la clínica humana*. Directores THOMPSON, R. H., y KING, E. J. Ed. Aguilar, Madrid.
- THOMPSON, R. H. S., i KING, E. J. (1961): *Transtornos bioquímicos en la clínica humana*. Ed. Aguilar, Madrid.
- TICHY, J., et MICHALEC, C. (1965): *La chromatographie (sur papier à gel de silicate) des esters du cholesterol dans le liquide céphalo-rachidien*. 8ème Congrès International de Neurologie. Excerpta Médica, n.º 94. Pàgs. 153-154.
- VILLAR PALASÍ, V.; SANTOS RUIZ, A. (1962): *Tratado de bioquímica*. Tomos I y II. Editorial Lye. Barcelona.
- WAREMBOURG, H.; BERTRAND, M.; SEZILLE, G., et BISERTE, G. (1965): *L'Épuration lipidique plasmatique chez l'arthéroscléreuse*. I: L'Épuration plasmatique des graisses injectées par voie intravéneuse; II: Dosage de l'activité lipolytique dans le plasma post héparine. Protides of the biological fluids. 13th Colloquium. Ed. by H. Peeters. Ed. Elsevier.
- WHERRETT, J. R. (1967): *Analysis of polar lipids in the urine sediment*. Clin. Chim. acta. 16(1), 135-145.
- WRETLIND, A. (1968): *Alimentación completa por vía parenteral*. Münch. Med. Wochens. Ed. Española. Mayo 1968.

TAULA

ADVERTIMENT	5
DEDICATÒRIA	7
I. INTRODUCCIÓ	9
1. Objecte del treball	9
2. Bioquímica dels lípids	10
A) <i>Definició</i>	10
B) <i>Classificació</i>	11
C) <i>Propietats físico-químiques dels lípids</i>	16
3. Lipoproteïnes	17
4. Resum metabòlic. Lipogènesi. Lipòlisi	20
5. Lípids cel·lulars	21
6. Lípids tissulars	23
7. Absorció intestinal dels lípids. Lípids sèrics	26
8. Resum. Importància biològica dels lípids	31
II. MATERIAL I MÈTODES	33
A) Mètodes cromatogràfics	33
1. <i>Preparació de la capa fina</i>	33
2. <i>Preparació dels extractes lipídics</i>	33
a) Sèrum	33
b) Orina	35
c) Extractes fecals	36
d) Extractes tissulars	36
3. <i>Desenrotllament cromatogràfic</i>	37
a) Separació de lípids neutres	37
b) Separació d'esters de colesterol	41
c) Separació de fosfolípids sèrics	41
d) Separació de triglicèrids	42
e) Separació d'àcids grassos lliures	43

4.	<i>Mètodes de determinació</i>	43
5.	<i>Interpretació de resultats</i>	44
6.	<i>Altres tipus de cromatografia aplicats a l'estudi dels lípids</i>	45
B)	Mètodes electroforètics	47
a)	<i>Electroforesi damunt paper i acetat de cel·lulosa</i>	47
b)	<i>Electroforesi damunt gels</i>	49
c)	<i>Immunolectroforesi</i>	49
C)	Mètodes químics	50
III.	ALTERACIONS DEL METABOLISME LIPÍDIC	51
1.	Classificació de les dislipèmies. Dislipèmies essencials	53
2.	Lipoïdosi	55
3.	Alteracions dels lípids sèrics en la diabetis mel·lita	57
4.	Dislipèmies en tireopaties	57
5.	Dislipèmies en hepatopaties	58
6.	Dislipèmies en nefropaties	59
IV.	LIPIDÚRIES	63
A)	Lipidúries fisiològiques	64
B)	Lipidúries patològiques	66
V.	RESUM I CONCLUSIONS	69
	BIBLIOGRAFIA	77

ACABAT D'IMPRIMIR
A EDICIONS ARIEL, S. A.,
D'ESPLUGUES DE LLOBREGAT,
EL DIA 15 DE JULIOL DE 1970.
GRAVATS DE J. M. LLOVET.

