



**BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Licenciatura en Químico Farmacobiólogo
Departamento de Análisis Clínicos**

**Tesis profesional para obtener el título de Licenciado en
Químico Farmacobiólogo**

**“Efecto de la dislipidemia en los lipoproteinogramas
de pacientes con sobrepeso y obesidad”**

Presenta:

Q.F.B. Gabriela Pérez Ramos

Director de Tesis:

M.C. José Ángel Francisco Flores Hernández

Asesor metodológico:

Q.F.B. Verónica Rivera Cerón

H. Puebla de Zaragoza, Noviembre 2014

DEDICATORIAS

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti DIOS que me has concedido la oportunidad de vivir y darme una familia maravillosa.

Con mucho cariño a mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por todo mamá y papá, por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí; siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor, por todo esto y más les agradezco de todo corazón que estén conmigo.

A mis hijos Alonso y Mildred, que me han enseñado tanto a su corta edad. A no rendirme y con paso firme seguir hasta la meta. Los amo mis pequeñines.

A ti Esposo, por todo este tiempo en el cual hemos compartido tantas cosas. Gracias por estar conmigo y recuerda que eres muy importante para mí, te amo.

A mis hermanos Laura, Jimmy y Paco gracias por estar conmigo, por todo el apoyo que me han dado para continuar y seguir con mi camino; los quiero mucho.

A mis profesores por confiar en mí. QFB Ángel y QFB Verónica Rivera por tener la paciencia necesaria, QFB Rosario y QFB Juan Marquez gracias por apoyarme en momentos difíciles y QFB Italo Gaya Capellini muchas gracias por todo. Agradezco el haber tenido unos profesores tan buenos como lo son ustedes.

Y a todos mis amigos, quisiera nombrarlos a cada uno de ustedes pero son muchos; pero eso no quiere decir que no me acuerde de cada uno, a todos los quiero mucho porque han sido parte de mi vida y de este trabajo. Muchas gracias por estar conmigo en todo este tiempo donde he vivido momentos felices y tristes, gracias por ser mis amigos y recuerden que siempre los llevaré en mi corazón.

Gracias porque sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado, tantas desveladas sirvieron de algo y aquí está el resultado. Les agradezco a todos ustedes con toda mi alma el haber llegado a mi vida y el compartir tantos momentos. Los quiero mucho y nunca los olvidaré.

AGRADECIMIENTO

Efecto de la dislipidemia en los lipoproteinogramas de pacientes con sobrepeso y obesidad

Presenta Gabriela Pérez Ramos para obtener el grado de Licenciada en Químico farmacobiologa por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

El trabajo de investigación que se expone en esta Tesis de Licenciatura ha sido realizado en Laboratorios Gaya S.A de C.V. bajo la orientación de la QFB Verónica Rivera Cerón y bajo la dirección del MC José Ángel Francisco Hernández Flores del departamento de Análisis Clínicos y del Laboratorio de Investigaciones Nefrourológicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

QFB Verónica Rivera Cerón

MC José Ángel Francisco Hernández Flores



ÍNDICE

INDICE.....	3
ABREVIATURAS	5
1. MARCO TEÓRICO.....	9
1.1 Introducción.....	9
1.2 Metabolismo de los lípidos.....	9
1.3 Generalidades de los lípidos y las lipoproteínas.....	10
1.3.1 Composición.....	10
1.3.2 Estructura general.....	11
1.4 Dislipidemias.....	12
1.4.1 Clasificación de las dislipidemias.....	12
1.5 Diagnóstico por laboratorio de las dislipidemias.....	14
1.5.1 Pruebas de Laboratorio.....	14
1.5.2 Clasificación de las dislipidemias por Fredrickson.....	15
1.5.3 Fenotipos de electroforesis de lipoproteínas.....	16
2. DEFINICION DEL PROBLEMA.....	17
3. JUSTIFICACIÓN.....	19
4. OBJETIVOS.....	20
5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
5.1 Tipo de estudio.....	21
5.2 Universo de estudio.....	21
5.3 Tamaño de la muestra.....	21
5.4 Tipo de muestreo.....	21
5.5 Criterios de selección.....	21
5.5.1 Criterios de inclusión.....	21
5.5.2 Criterios de exclusión.....	21
5.5.3 Criterios de eliminación.....	22
5.6 Definición del grupo control.....	22

5.7 Variables y definición de variables.....	22
5.8 Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas.....	23
5.9 Aspectos bioéticos.....	23
5.9.1 Carta de consentimiento informado.....	23
5.9.2 Cuestionario.....	23
6. ORGANIZACIÓN.....	23
6.1 Recursos humanos.....	23
6.2 Recursos materiales.....	23
6.3 Recursos financieros.....	23
7. MATERIALES Y METODOS.....	24
7.1 Diagrama de trabajo.....	24
7.2 Metodología y sus fundamentos.....	25
7.3 Control de calidad.....	29
7.4 Medidas de seguridad.....	29
8. RESULTADOS.....	30
9. CONCLUSIONES.....	43
10. BIBLIOGRAFÍA.....	44
11. APÉNDICES.....	49

ABREVIATURAS

ABCA1	Proteínas en cassette enlazantes de ATP tipo A1
ABCG1	Proteína en cassette transpotador de G1
ADAMTS1	Metaloproteinasa desintegrina de trombospondina 1
AGL	Ácidos grasos y libres
AGNE	Ácidos grasos no esterificados
AKT/PK β	Vía de señalización celular
apoA-I	Apoproteína A-I
apoA-II	Apoproteína A-II
apoA-IV	Apoproteína A-IV
apoB	Apoproteína B
apoB-48	Apoproteína B-48
apoB-100	Apoproteína B-100
apoC	Apoproteína C
apoC-I	Apoproteína C-I
apoC-II	Apoproteína C-II
apoC-III	Apoproteína C-III
apoE	Apoproteína E
BPI	Bactericidal/permeability increasing protein
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico
CD36	Gen receptor de trombospondina
CE	Colesterol estereasa
CE	Colesterol esterificado
CETP	Proteína transferidora de colesterol esterificado
cHDL	Colesterol HDL
ChREBP	Proteína de respuesta de carbohidratos
cJUN	Gen que codifica la proteína c-JUN
CO	Colesterol oxidasa
CREB	Factor de transcripción de AMPc
CT	Colesterol total

CXCL1	Quimiocina (CXC) ligando 1
C/EBP α	Proteína de unión potenciadora alfa
DEA-HCl/AAP	N,N dietilanilina-HCl/4-amino-antipirina
dL	Decilitro
DM	Diabetes mellitus
ECV	Enfermedades cardiovasculares
EEM	Error estándar de la media
EL	Lipasa derivada del endotelial
ELAM-1	Molécula-1 de adhesión de células T
ER	Retículo endotelial
ERK1/2	Cinasas reguladoras por señales extracelulares
EROS	Especies reactivas de oxígeno
Est. Col	Ésteres de colesterol
FABP	Proteína de unión de ácidos grasos
FATP	Proteína de transporte de ácidos grasos
FLAP	Araquidonato 5 lipooxigenasa
GK	Glicerol cinasa
Glu	Glucosa
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HDLd	HDL densas
HDL sd	HDL pequeñas y densas
HMGCoA	Hidroxi-metil-glutaril-coenzima A
HPO	Peroxidasa de rábano
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
IDL	Lipoproteínas de densidad intermedia
IKK β	Inhibidor kappa β kinasa
IL1 β	Interleucina 1 β
IL6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
IRS-1	Sustrato del receptor de la insulina 1
Kg	Kilogramos

LBP	Proteína de unión al lipopolisacárido
LCAT	Lecitin colesterol aciltransferasa
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDLox	LDL oxidadas
LDLsd	LDL pequeñas y densas
LH	Lipasa hepática
LPC	Lisofosfatidilcolina
LPL	Lipoproteína lipasa
LRT	Lipoproteínas ricas en triglicéridos
LSH	Lipasa sensible a hormonas
LTP	Proteínas transferidoras de lípidos
LXR	Receptor X del hígado
m ²	metros cuadrados
MCP-1	Quimiocina
mg	Miligramos
mL	Mililitros
MTP	Proteína microsomal de transferencia de los triglicéridos
MyD88	Gen de respuesta primaria de diferenciación mieloide (88)
NADPH	Forma reducida del NADP+
NF-K β	Factor nuclear $\kappa\beta$
Nm	Nanometro
OCDE	Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno
PECAM-1	Molécula de adhesión celular endotelial en plaquetas
PEG	Polietilenglicol
PI3K	Fosfoinositol 3-kinasa
PKC	Proteína kinasa C
PLTP	Proteínas transferidoras de fosfolípidos
POD	Peroxidasa
PPAR γ	Receptor del activador del proliferador de peroxisomas

Pre- β	Prebeta
P38MAPK	Proteínas quinasas activadas por mitógenos p38
Qm	Quilomicrones
Qmr	Qm remanentes
RI	Resistencia a la insulina
SM	Síndrome metabólico
SOCS-3	Supresor de señalización de citosina 3
SOD3	Superóxido dismutasa 3
SRB-1	Receptor scavenger B1
SREBP	Proteína de unión al elemento de respuesta de esteroides
Tg	Triglicéridos
TGF- β	Factor de crecimiento transformante β
TLR4	Receptor tipo Toll 4
TLR6	Receptor tipo Toll 6
TNFR-1	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral
TNTF α	Factor de necrosis tumoral alfa
TRC	Transporte reverso del colesterol
VCAM-1	Moléculas de adhesión-1
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VLDLr	VLDL remanentes
vr	Versus
α	Alfa
Å	Angstroms
β	Beta
μ l	Microlitros

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción

La dislipidemia es el trastorno que afecta la estructura, composición o metabolismo de las lipoproteínas, y se suelen agrupar en hiperlipoproteinemias, hipolipoproteinemias y aparición de lipoproteínas anómalas. Las lipoproteínas son macromoléculas cuya función es empaquetar los lípidos insolubles en el medio acuoso del plasma provenientes de los alimentos (exógenos) y los sintetizados por nuestro organismo (endógenos), que son transportados desde el intestino y el hígado a los tejidos periféricos y viceversa; devolviendo el colesterol (CT) al hígado para su eliminación en forma de ácidos biliares fundamentalmente.¹ Hoy en día una de las alteraciones metabólicas más mortíferas son las dislipidemias, mismas que son altamente aterogénicas. El estudio de esta anomalía es de importancia, debido a que su alteración cuantitativa o cualitativa en lo que respecta a su composición representa factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares debido a su participación en la génesis de partículas aterogénicas como las lipoproteínas de baja densidad (LDL), LDL oxidadas (LDLox), LDL pequeñas y densas (LDLsd) o remanentes de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLr) y remanentes de quilomicrones (Qmr).^{1,2}

1.2 Metabolismo de los lípidos

Los lípidos son transportados por dos vías: la exógena, que transporta colesterol y triglicéridos (Tg) absorbidos a través del intestino delgado, y la endógena, que transporta lípidos al tejido adiposo, hígado y otros órganos. En la vía exógena, los Qm formados pasan por los vasos linfáticos al conducto torácico y de ahí a la sangre venosa. La apoproteína B (apoB), es sintetizada por las células intestinales, esta dispara la acción de la lipoproteína lipasa (LPL) que hidroliza los Tg en glicerol y ácidos grasos libres (AGL). Los Qm disminuyen en tamaño y son removidos de la circulación por los hepatocitos.³

En la vía endógena, el hígado sintetiza y secreta VLDL, las cuales contienen apoB y C, descargando Tg en el tejido adiposo. En el proceso son reducidos, pierden

apoC y se transforman en LDL. Éstas aportan colesterol para la síntesis de membranas celulares y hormonas esteroideas; además, parte del colesterol es reincorporado después de su esterificación a lipoproteínas de alta densidad (HDL). Éstas, a diferencia de los Qm y las VLDL, son secretadas en su forma inicial que se sintetizan en hígado e intestino delgado para formar HDL que ayuda a transportar colesterol entre las células y los líquidos corporales. La apoA-I activa a la lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT), enzima que forma ésteres de colesterol (Est. Col); estos son llevados al hígado donde es removido el CT que es secretado en el intestino como sales biliares, las cuales son reabsorbidas y recicladas (Figura 1).

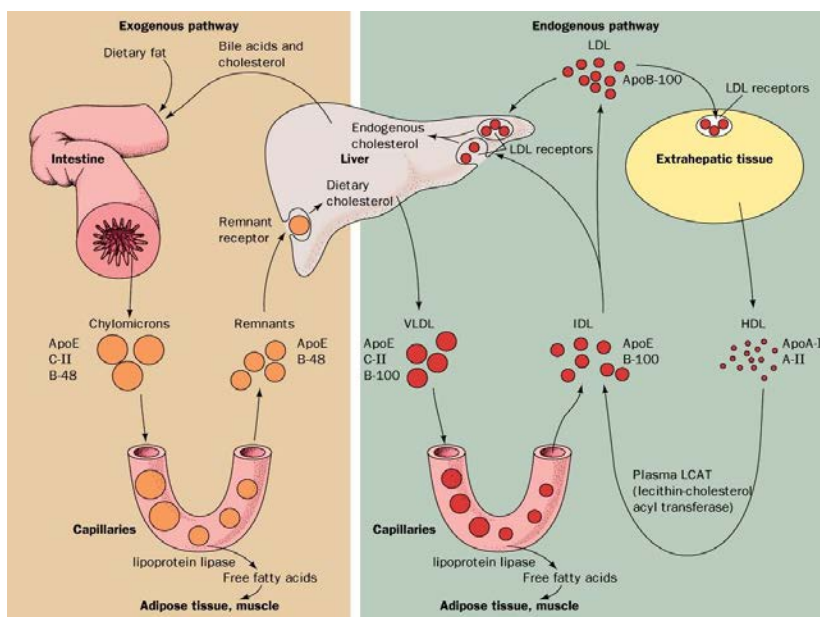


Figura 1. Transporte endógeno y exógeno de las lipoproteínas⁴

1.3 Generalidades de los lípidos y las lipoproteínas

1.3.1 Composición

Las lipoproteínas son partículas formadas por una fracción proteica y una fracción lipídica. Están compuestas por lípidos como colesterol libre y esterificado, triglicéridos y fosfolípidos; además de las apoproteínas.

1.3.2 Estructura y clasificación de las lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos pseudo-micelares con forma de microesferas; estructurados en su superficie por una monocapa de lípidos anfipáticos

(fosfolípidos y colesterol libre) que exponen sus grupos polares hacia el medio acuoso y sus extremidades hidrofóbicas se segregan hacia el núcleo de la partícula (figura 2).

Esta monocapa de lípidos anfipáticos se estabiliza gracias a un grupo de proteínas denominadas apolipoproteínas. El ambiente fuertemente hidrofóbico de la cavidad central permite alojar a los lípidos más insolubles en agua que son el colesterol esterificado y los triglicéridos evitando así la interacción con el medio acuoso externo.

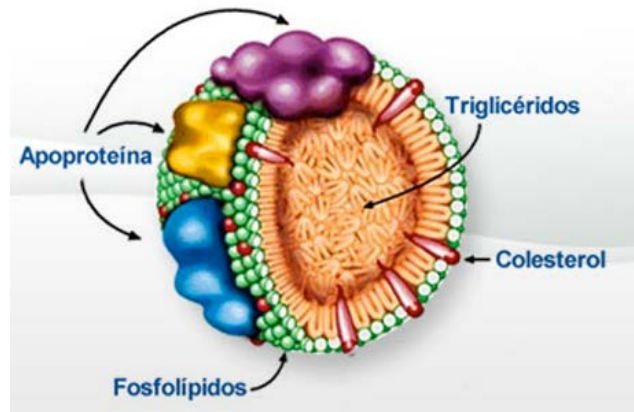


Figura 2. Esquema de la estructura de una lipoproteína ⁵

Las lipoproteínas se pueden clasificar en base a diferentes propiedades fisicoquímicas, tales como su densidad, movilidad electroforética y contenido de apolipoproteínas.⁶

a) De acuerdo a su densidad se conocen cinco clases de lipoproteínas cuyas características se presentan en la tabla 1.

b) Por su migración electroforética se distinguen tres tipos de lipoproteínas: α , β y pre- β , que corresponde respectivamente a las HDL, LDL y a las VLDL así como a una subclase de HDL de forma discoidal, respectivamente. Esta clasificación es poco usada, pero hace referencia a las dislipoproteinemias nombrándolas por la fracción electroforética alterada (abetalipoproteinemias, hipoalfalipoproteinemias).⁹

LIPOPROTEÍNA	NOMBRE	TAMAÑO Angstroms (Å)	DENSIDAD (mg/mL)	APOLIPROTEÍNAS	CARACTERÍSTICAS Y SU FUNCIÓN
Qm	Quilomicrones	800-5000	< 0.95	B-48, C-I, C-II, C-III y E	Se sintetiza en intestino. Transporte de Tg y CT de dieta a hígado.
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad	300-800	0.95-1.006	B-100, C-I, C-II, C-III y E	Sintetizada y secretada por hígado. Transporta a la circulación Tg de síntesis endógena
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia	250-350	1.006-1.019	B-100, C-I, C-II, C-III y E	Producto del catabolismo de las VLDL. > CT y <Tg
LDL	Lipoproteína de baja densidad	180-280	1.019-1.063	B-100, E18-25	Distribuir CT a los tejidos para sus membranas o síntesis de hormonas esteroideas o sales biliares.
HDL	Lipoproteína de alta densidad	50-120	1.063-1.210	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III y E	Transportar CT de tejidos periféricos al hígado.

Tabla 1. Apolipoproteínas principales clasificadas de acuerdo a su densidad.^{3, 7, 8}

1.4 Dislipidemias

Se definen como cualquier modificación en la síntesis, transporte o metabolismo de las lipoproteínas que altere la concentración plasmática de colesterol total o sus diferentes fracciones transportadoras así como los niveles plasmáticos de triglicéridos.¹

1.4.1 Clasificación de las dislipidemias

Las dislipidemias pueden ser causadas por defectos genéticos (dislipidemias primarias), o ser consecuencia de patologías o de factores ambientales (dislipidemias secundarias). En muchas ocasiones, los defectos genéticos requieren de la presencia de factores secundarios para expresarse clínicamente. La detección de una dislipidemia de origen genético implica efectuar una investigación de trastorno lipídico en otros miembros de la familia.⁹

A) Dislipidemias primarias

Se deben a mutaciones genéticas que codifican proteínas responsables del metabolismo lipoproteico, generando hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia y bajas concentraciones de HDL. Las dislipidemias de causa genética son:

Hiperlipoproteinemias primarias

- I) Hipercolesterolemia
 - a. Deficiencia del receptor de LDL
 - b. Defecto familiar de ApoB-100
 - c. Hipercolesterolemia poligénica
- II) Hipertrigliceridemia
 - a. Hiperquilomicronemia
 - Deficiencia familiar de LPL
 - Deficiencia familiar de ApoC-II
 - b. Hipertrigliceridemia familiar
- III) Hiperlipemia mixta
 - a. Hiperlipemia familiar combinada
 - b. Disbetalipoproteinemia

Hipolipoproteinemias primarias

- I) Abetalipoproteinemia
- II) Hipoalfalipoproteinemia
- III) Deficiencia de lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT)

B) Dislipidemias secundarias

Hiperlipoproteinemias secundarias

- I) Estilo de vida sedentario
- II) Exceso en la dieta de: calorías, grasas, carbohidratos, ingesta de alcohol.
- III) Enfermedades (obesidad, diabetes, hipotiroidismo, insuficiencia renal, síndrome nefrótico, cirrosis hepática, obstrucción biliar).
- IV) Embarazo.
- V) Tratamiento farmacológico.

Hipolipoproteinemia secundaria

- I) Se relacionan con alteraciones hepáticas graves, neoplasias, desnutrición, infecciones agudas, anemias graves, hipertiroidismo, talasemia, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide.¹⁰

1.5 Diagnóstico por laboratorio de las dislipidemias

Se basa en los niveles séricos de las lipoproteínas y de sus lípidos, y/o de la presencia de depósitos de ellos en la piel y tendones. La determinación cuantitativa de las lipoproteínas es compleja, de tal manera que el diagnóstico se hace con la evaluación de sus lípidos componentes y eventualmente con la identificación semicuantitativa de las lipoproteínas por análisis electroforético.⁹

1.5.1 Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de las dislipidemias

a. Colesterol Total y sus densidades

El colesterol es un tipo de lípido que circula por nuestra sangre e interviene en múltiples procesos de nuestro organismo, como la fabricación de algunas hormonas (las sexuales o las esteroideas), la digestión de las grasas o la formación de ácidos biliares, además de formar parte de todas las membranas celulares. El organismo tiene dos fuentes principales de colesterol: la hepática (producción de colesterol en el hígado), y la intestinal (absorción de colesterol biliar y de la dieta en el intestino). El colesterol libre representa un 25% del total y el esterificado cerca del 75%. Desde el punto de vista clínico se distinguen cuatro tipos de lipoproteínas, en función de su contenido lipídico y proteínico: Qm, VLDL, LDL y HDL.^{11, 12}

b. Triglicéridos

Los triglicéridos son lípidos insolubles en agua compuestos por tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol, se transportan en la sangre como componentes básicos de todas las lipoproteínas, la mayor concentración de estas moléculas se lleva en quilomicrones ricos en triglicéridos y VLDL. Mediante la acción de las lipasas y los ácidos biliares, los Tg se hidrolizan en glicerol y ácidos grasos que son absorbidos por el tejido adiposo para su almacenamiento o por otros tejidos que necesiten una fuente de energía. Tras su absorción, se vuelven a sintetizar en los enterocitos y se combinan con CT y con varias apolipoproteínas para formar Qm. El método de Tg es una prueba de diagnóstico in vitro destinada a la determinación cuantitativa en suero o plasma humano.¹³

c. Electroforesis de lipoproteínas

Método semicuantitativo que permite identificar la distribución porcentual de las distintas fracciones lipoproteicas Qm, VLDL, LDL y HDL. En el individuo sano, se identifican 3 bandas: betalipoproteínas (LDL), prebetalipoproteínas (VLDL) y las alfalipoproteínas (HDL). El predominio porcentual de una de ellas, puede identificar el defecto metabólico. La aparición de una banda en el punto de aplicación corresponde a la presencia de quilomicrones, lo que es patológico en condiciones de ayuno. La aparición de una banda ancha que abarca beta y prebeta es sugerente de un acúmulo anormal de IDL y/o de remanentes de Qm. (Figura. 3)

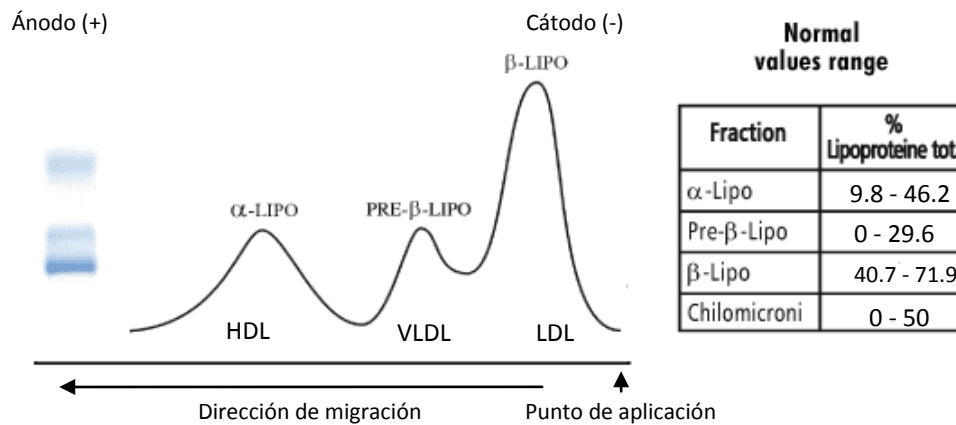


Figura 3. Modelo y gráfico de lipoproteínas normales en acetato de celulosa.¹⁴

1.5.2 Clasificación de las dislipidemias basada en el fenotipo electroforético por Fredickson.

Realizada mediante electroforesis o ultracentrifugación, adoptada en 1972 como estándar mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS).^{10, 15} Tabla 2

Clasificación de Fredrickson			
Hiperlipoproteinemia	Sinónimos	Causas	Alteración en la electroforesis
Tipo I	Síndrome de Buerger-Gruetz, hiperlipoproteinemia primaria o hiperquilomicronemia familiar	Descenso de la lipoprotein lipasa (LPL) o alteración en la Apo C2	Elevación de quilomicrones
Tipo IIa	Hipercolesterolemia poligénica o familiar	Deficiencia del receptor de LDL	Elevación aislada de LDL
Tipo IIb	Hiperlipidemia mixta	Descenso de los receptores de LDL e incremento de Apo B	Elevación de LDL, VLDL y TAG
Tipo III	Disbetalipoproteinemia familiar	Síntesis defectuosa de Apo E	Elevación de IDL
Tipo IV	Hiperlipidemia familiar	Incremento de la síntesis de VLDL y disminución de su catabolismo	Elevación de VLDL
Tipo V	Hipertriacilgliceridemia endógena	Incremento de la síntesis de VLDL y descenso de LPL	Elevación de VLDL y Quilomicrones

Tabla 2. Clasificación de Fredickson¹

1.5.3 Fenotipos de electroforesis de lipoproteínas

D.S. Fredickson, R.I. Levy y R. S. Lees, plantearon en 1965 una clasificación para determinar la hiperlipoproteinemia que se padece (Figura 4). Mediante la evaluación del lipidograma expresada en forma porcentual, demostrando como se encuentran las bandas lipoproteicas (aumentada, disminuida, ausente, etc.)^{14, 16}

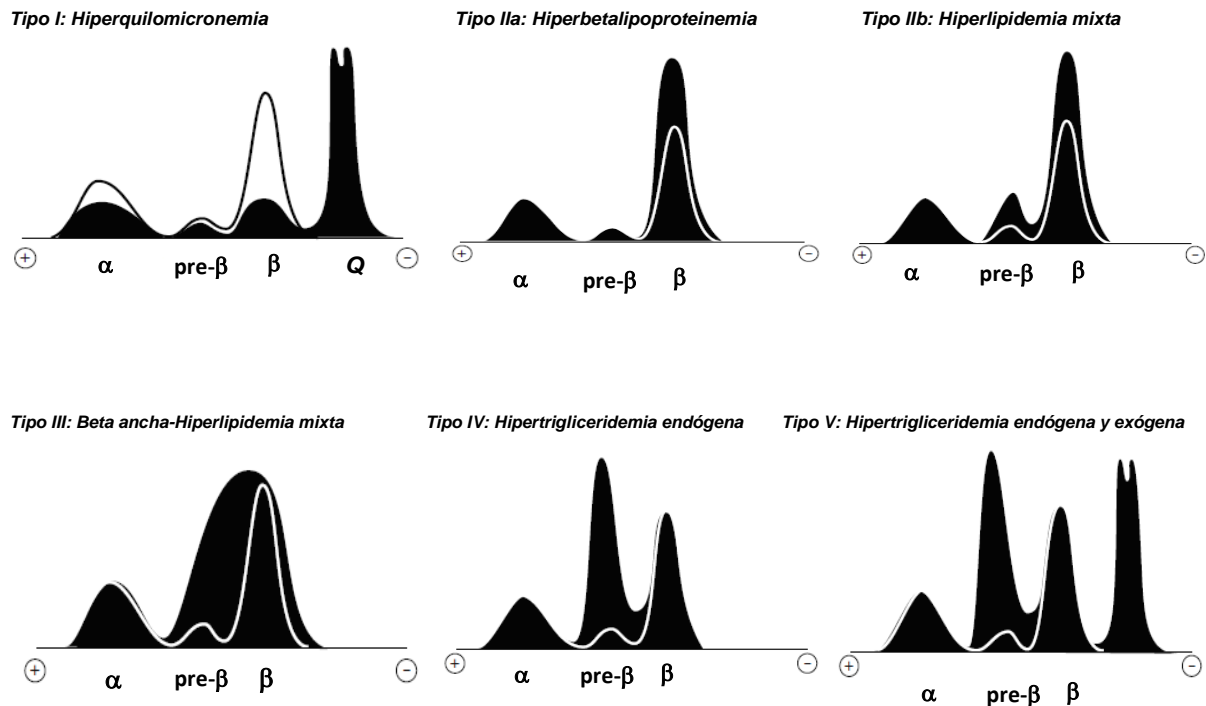


Figura 4. Modelos de los fenotipos (clasificación de Fredickson y Lees)¹⁴

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte en el mundo, pero las medidas de diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias en la población con alto riesgo de desarrollar ECV son considerablemente bajas. En México, en el año 2000, cerca de 30 millones de adultos (60.5% de la población) presentaban al menos un factor de riesgo cardiovascular.¹⁷ En el año 2012, el sobrepeso y la obesidad en México se han convertido en el factor de riesgo modificable más importante del país. En la actualidad 71.3% de los adultos padece esta condición, con una prevalencia ligeramente elevada en las mujeres. Por grupo de edad la obesidad es más frecuente en la cuarta y quinta décadas de la vida. De acuerdo con los puntos de corte de índice de masa corporal (IMC) propuestos por la OMS, la obesidad fue más alta en el sexo femenino 37.5% que en el masculino 26.9%, al contrario del sobrepeso, donde el sexo masculino tuvo una prevalencia de 42.6%, y el femenino una de 35.5%.¹⁸ Datos de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) colocan a México en segundo lugar de los países con mayor índice de obesidad en su población con el 30%.¹⁹ Si bien las tendencias muestran una desaceleración del aumento en la prevalencia, no existe evidencia que permita inferir que disminuirá en los próximos años.

Muchas de las ECV están asociadas con el desarrollo del catabolismo de los carbohidratos (disglucemias) y el catabolismo de los lípidos (dislipidemias); que durante el desarrollo de las alteraciones metabólicas se originan moléculas de lípidos como lo son: LDL, HDL, Qm y VLDL y estas moléculas pueden interactuar entre sí, o con otras células, originando disfunción o hiperreactividad; favoreciendo la formación de placas ateromatosas. Informes de dislipidemias en hombres y mujeres, y en grupos étnicos diferentes reflejan un patrón dislipidémico fenotípico en común, hipertrigliceridemia, con elevación de VLDL, y la disminución de HDL. Las dislipidemias son uno de los eventos más precoces en muchas patologías crónicas degenerativas, como la Diabetes mellitus, Hipertensión arterial, Síndrome

metabólico, Obesidad, Infarto agudo al miocardio, entre otras.^{1, 19} Para su diagnóstico se ha utilizado la determinación de CT, Tg y electroforesis de lipoproteínas. Durante la práctica se ha observado que existen pacientes que presentan valores de CT, Tg y HDL dentro de los rangos de referencia, pero la electroforesis de lipoproteínas está alterada por lo que ésta prueba si aporta información de alguna patología.

3. JUSTIFICACIÓN

La electroforesis de lipoproteínas es un análisis que se utiliza para medir el comportamiento, homogeneidad y distribución de las lipoproteínas respecto a su comportamiento ideal. La prueba proporciona información importante que puede ayudar a un diagnóstico temprano de las dislipidemias, las cuales puedan ser originadas por el estilo de vida de los pacientes, ingesta de alimentos o dieta alimenticia, la epigenética del individuo o la administración de fármacos.

El monitorear el comportamiento de las lipoproteínas a través del método de electroforesis de lipoproteínas, las concentraciones de CT total y sus densidades HDL, LDL y VLDL y Tg, en pacientes sin manifestaciones clínicas relacionadas con dislipidemias y su correlación con datos antropométricos es muy importante, ya que se esperaría encontrar un fenotipo normal en el corrimiento electroforético, pero no siempre es así; en ocasiones el comportamiento del área bajo la curva de las fracciones en la electroforesis, indicaría la formación de proteínas transportadoras potencialmente aterogénicas como: LDLsd, LDLox, HDLsd, VLDLr o LRT.

De esto se desprende la pregunta: ¿El patrón electroforético de lipoproteínas ayudará en un diagnóstico de las dislipidemias en pacientes con obesidad y sobrepeso?

4. OBJETIVOS

General

Identificar el efecto de la dislipidemia en los lipoproteinogramas de pacientes con sobrepeso y obesidad.

Específicos

- Caracterizar antropométricamente y bioquímicamente a la población en estudio
- Agrupar la población de acuerdo a los resultados de IMC, Tg y cHDL.
- Construir gráficas tipo curvas de los corrimientos electroforéticos de los grupos en estudio e identificar los patrones obtenidos.
- Correlacionar las gráficas obtenidas con los valores de Tg/cHDL.

5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

5.1 Tipo de estudio

- Prospectivo, transversal, descriptivo, observacional.

5.2 Universo de estudio

Se analizaron los resultados de pacientes de los Laboratorios Gaya S.A de C.V de la ciudad de Puebla a los cuales se les realizó, determinación de Glucosa basal, Colesterol y sus densidades, Triglicéridos, Electroforesis de Lipoproteínas en el período comprendido de Marzo-Mayo 2012.

5.3 Tamaño de la muestra

- Se seleccionó una población de 120 personas en el período mencionado; de las cuales 45 cumplieron con los criterios de inclusión.

5.4 Tipo de muestreo

- Muestreo intencional y de conveniencia con Laboratorios Gaya S.A de C.V, en la ciudad de Puebla.

5.5 Criterio de selección

5.5.1 Criterios de Inclusión

- Pacientes que soliciten realizar perfil de lípidos, CT, cHDL, Tg y corrimiento electroforético de lípidos
- Pacientes sin diagnóstico previo de diabetes.
- Determinación de glucosa basal.
- Pacientes adultos de 18 – 70 años
- Pacientes ambos géneros
- Pacientes con ayuno de 8 - 10 horas

5.5.2 Criterios de Exclusión

- Pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión

- Pacientes embarazadas
- Pacientes con enfermedades crónico degenerativas
- Pacientes que tengan tratamiento (estatinas, ezetimibe, secuestradores de sales biliares)

5.5.3 Criterios de Eliminación

- Suero icterico o hemolizado.

5.6 Definición del grupo control

- Pacientes que cumplan con los valores de referencia en la determinación de las variables planteadas, cumpliendo con los criterios de inclusión.

5.7 Variables y definición de variables

a. Independiente:

- Edad
- Género

b. Dependiente:

- Glucosa, CT, HDL, Tg, IMC, Electroforesis de lipoproteínas; fracciones α , β y pre- β .

c. Cuantitativa:

- Niveles de Glucosa: 70 – 100 mg/dL²⁰
- Niveles de CT: <200 mg/dL¹¹
- Niveles de cHDL: >40 mg/dL hombres y >50 mg/dL mujeres²¹
- Niveles de Tg: <150 mg/dL²¹
- IMC: (normal 18.5-24.9 kg/m², sobrepeso 25-29.9 kg/m², obesidad >30kg/m²)²⁰

d. Cualitativa:

- Fracciones: α , pre- β , β y Qm

5.8 Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas

Se aplicó la estadística descriptiva (gráfica poligonal y de barras) para la comparación del patrón electroforético de lipoproteínas y la frecuencia en cada muestra; y el estadigráfo de chi cuadrada para la comparación de las medias poblacionales.

5.9 Aspectos bioéticos

5.9.1 Carta de Consentimiento informado (Anexo 1)

5.9.2 Cuestionario (Anexo 2)

6. ORGANIZACIÓN

6.1 Recursos humanos

M.C. José Ángel Francisco Flores Hernández, Q.F.B. Verónica Rivera Cerón.
pQFB Gabriela Pérez Ramos

6.2 Recursos materiales

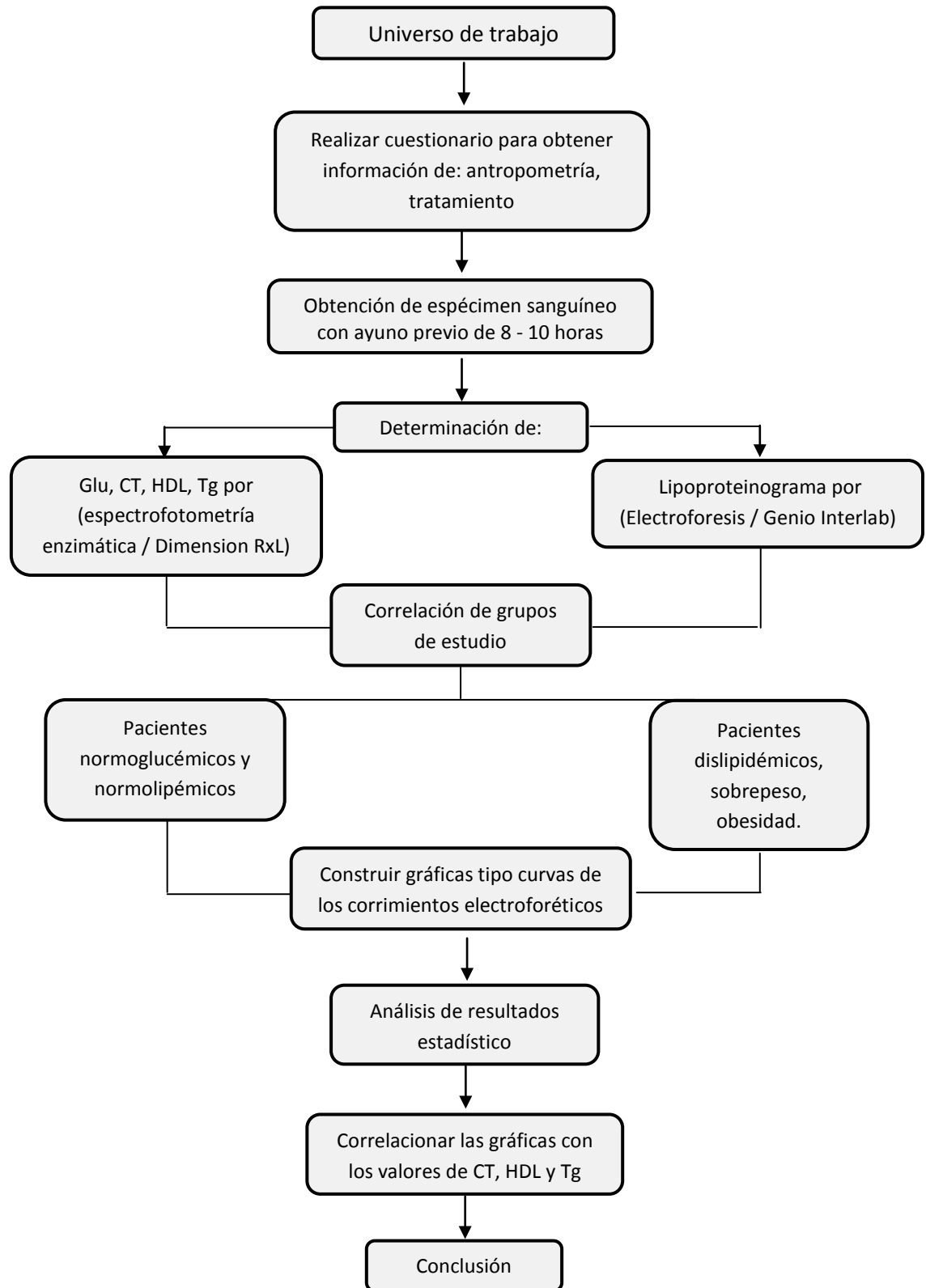
Apoyo otorgado por Laboratorios Gaya S.A. de C.V, Laboratorio de Investigaciones Nefrourológicas en la ciudad de Puebla.

6.3 Recursos financieros

Cubiertos por Gabriela Pérez Ramos

7. MATERIAL Y METODOS

7.1 Diagrama de trabajo

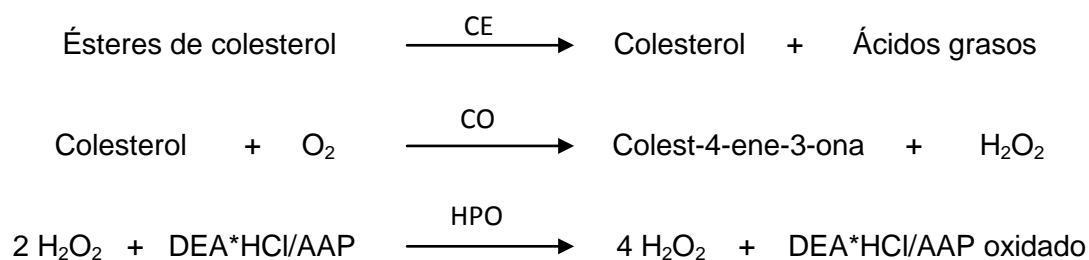


7.2 Metodología y fundamentos

El presente estudio utilizó datos de un muestreo de pacientes pertenecientes a la zona de Grajales, Puebla en el lapso comprendido de Marzo a Mayo obteniendo así un total de 120 personas. A los cuales se les hizo firmar una carta de consentimiento para realizar un cuestionario y obtener información de antecedentes familiares, datos personales, padecimiento de diabetes mellitus tipo 2 o enfermedades crónicas. Luego se procedió a tomar una sola muestra de sangre por personal calificado de acuerdo al manual de procedimientos de toma de muestras de los Laboratorios Gaya S.A. de C.V. de la ciudad de Puebla. Para los fines de este estudio todos los individuos tenían un período de ayuno de 8 a 10 hr al momento de la punción sanguínea. Se centrifugaron las muestras a 3500 r.p.m. durante 10 minutos para la separación inmediata del suero y se procesó el mismo día de su recolección, midiendo los diversos parámetros bioquímicos previamente establecidos en el protocolo de investigación: glucosa, colesterol total y sus densidades, y triglicéridos. Los estudios se realizaron en el analizador de Inmunoquímica Dimension RxL Max™, de Siemens.^{22, 23}

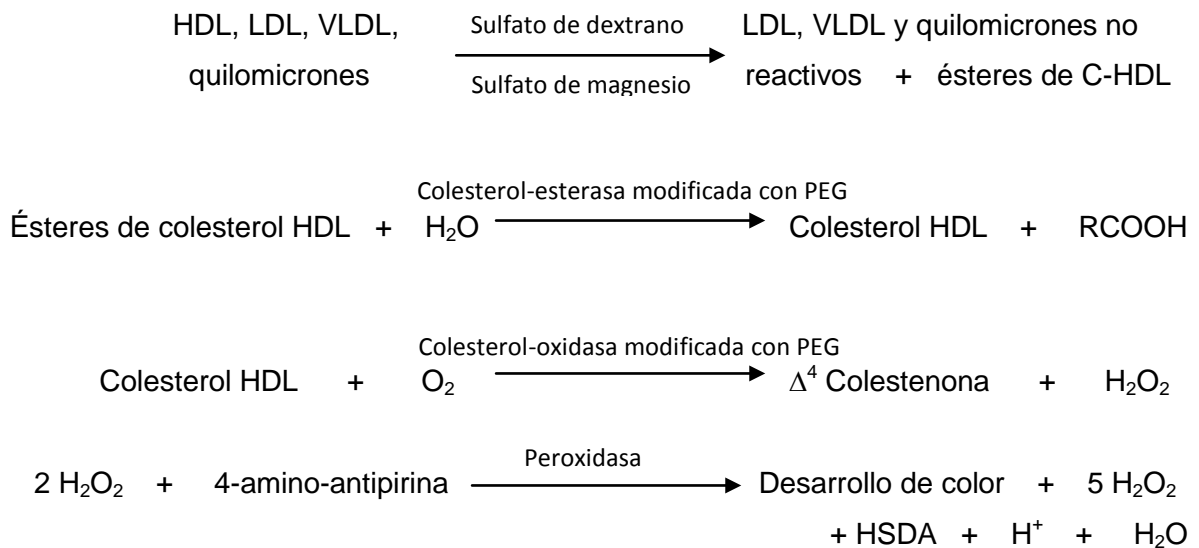
a. Colesterol total

El colesterol esterasa (CE) cataliza la hidrólisis de los ésteres de colesterol para producir colesterol libre que se oxida en una reacción catalizada por el colesterol oxidasa (CO) para formar colest-4-ene-3-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de la peroxidasa de rábano (HPO), el peróxido de hidrógeno formado se utiliza para oxidar N,N dietilanilina-HCL/4-aminoantipirina (DEA-HCl/AAP) y producir un cromóforo que absorbe a 540 nm. La absorbancia debida a la DEA-HCl/AAP oxidada es directamente proporcional a la concentración de colesterol total y se mide utilizando una técnica de punto final policromática (540 nm).¹¹



b. Colesterol de alta densidad (cHDL)

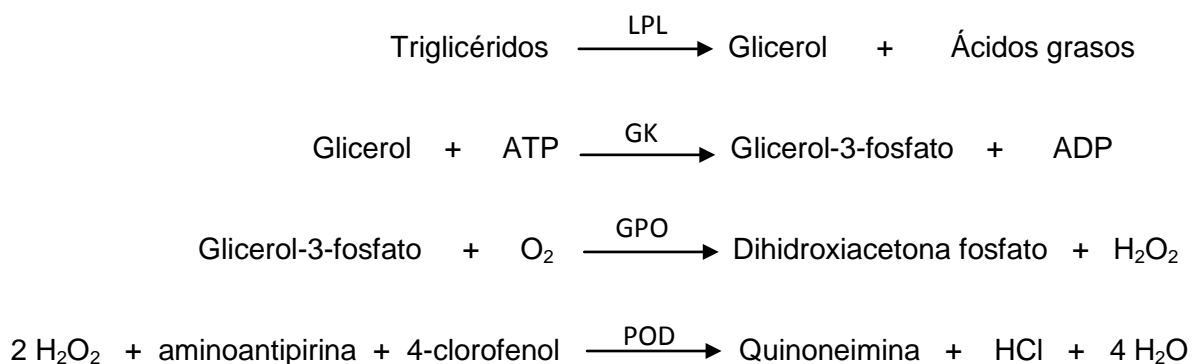
Determina la concentración sérica de colesterol asociado a las HDL de forma directa, utilizando un formato de dos reactivos. En la primera reacción, los quilomicrones, las VLDL y las LDL forman complejos hidrosolubles con sulfato de dextrano en presencia de sulfato de magnesio. Estos complejos son resistentes a la colesterol-esterasa y al colesterol-oxidasa modificado con polietilenglicol (PEG), que reaccionan con el colesterol asociado a las HDL. En presencia de oxígeno, el colesterol asociado a las HDL se oxida a Δ^4 -colesteno y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno generado reacciona a continuación con 4-aminoantipirina y N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (HSDA) de sodio en presencia de peroxidasa para formar un colorante que se mide mediante una técnica de punto final bicromático (600/700 nm). La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración sérica de cHDL.¹²



c. Triglicéridos

El método de triglicéridos se basa en un procedimiento enzimático en el que se utiliza una combinación de enzimas para medir los triglicéridos en suero o plasma. La muestra se incuba con un reactivo de enzima de lipoproteína lipasa (LPL) que convierte los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol libre. La glicerol cinasa (GK) cataliza la fosforilación de glicerol por adenosina-5-trifosfato (ATP) en glicerol-3-

fosfato. El glicerol-3-fosfato oxidasa oxida el glicerol-3-fosfato a dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La acción catalizadora de la peroxidasa (POD) forma quinoneimina a partir de H₂O₂, aminoantipirina y 4-clorofenol. El cambio en la absorbancia debido a la formación de quinoneimina es directamente proporcional a la cantidad de total de glicerol y sus precursores en la muestra y se mide utilizando una técnica de punto final bicromática (510 nm).¹³



d. Electroforesis de lipoproteínas

La electroforesis es una técnica basada en los movimientos de moléculas cargadas en un campo eléctrico, cada molécula se mueve hacia el electrodo de carga opuesta (cátodo y ánodo). Cuando una molécula cargada se coloca en un campo eléctrico se moverá hacia uno u otro electrodo dependiendo de su carga eléctrica, tamaño, intensidad del campo eléctrico, temperatura del medio. Los soportes son en general polímeros y forman un gel poroso que restringe el movimiento de las moléculas a través del medio durante la electroforesis.²⁴

Las lipoproteínas se separan en geles de acetato de celulosa según sus cargas eléctricas. La movilidad viene determinada por su carga neta de las cargas del grupo terminal y lateral de las apoproteínas, y por las cargas eléctricas de los fosfolípidos. Las bandas lipoproteicas se revelan empleando colorantes a fines en una solución alcalina.

El corrimiento de los lipoproteinogramas se hace en el sistema automático de electroforesis Genio de Interlab™.¹⁴ Las lipoproteínas se separan en las tiras de

acetato de celulosa según sus cargas eléctricas. La movilidad electroforética de las fracciones lipoproteicas viene determinada por su carga neta de las cargas del grupo terminal y lateral de apoproteínas, y por las cargas eléctricas de los fosfolípidos. Las bandas lipoproteicas se revelan mediante la coloración con Negro Sudan en una solución alcalina.

Procedimiento de la prueba:

La prueba se basa en insertar los secantes en las ranuras de la cámara de migración, mientras se vierte la solución tampón; asegurándose de que los niveles sean iguales y justo por debajo de línea roja horizontal de la cámara de migración. Se tapa la cámara de migración y luego esta se coloca en el instrumento, asegurándose de que esté completamente conectada.

Todos los reactivos deben estar en sus niveles óptimos antes de usar el instrumento y se termina de preparar la parrilla de reactivos como se indica en la página de configuración que se encuentra dentro del kit de pruebas o en el Manual del Usuario.

Luego se revisa el sujetador de geles para asegurarse de que esté limpio, sobre todo cerca de los broches y eliminar cualquier desperdicio. Colocar el gel en el sujetador como muestra el Manual del Usuario, no tocar el acetato con los dedos y asegurarse de que el gel este plano y que se adhiera al sujetador.

Colocar 30 μ L de suero en cada fuente de la bandeja de muestras evitando introducir burbujas.

Colocar el secante en la posición correcta en la bandeja de muestras y poner la bandeja de muestras en el instrumento.

Poner agua destilada en el canal de la bandeja de muestras como se explica en el Manual del Usuario y asegurarse de que la superficie del líquido este llena hasta al borde.

Verificar en el teclado del instrumento que las condiciones de operación sean las correctas y comenzar la prueba.

Se da inicio para comenzar la prueba, la cual dura aproximadamente una hora. Los resultados son datos numéricos obtenidos de la transformación densitométrica

de la frecuencia de cada lipoproteína enviados al equipo de cómputo de *Genio* de *Interlab*[™], que mediante un software *Elfolab*[™] se obtiene el lipoproteinograma. Una vez esto se realizó el análisis estadístico de las muestras poblacionales de los grupos en estudio vs grupo control, obteniéndose los lipoproteinogramas.

La talla y peso de cada individuo se midieron en una báscula con escalímetro. El IMC se calculó mediante la fórmula de Quetelet (peso en Kg/talla en m²).²² Se hizo un análisis de los datos obtenidos de las 120 personas y sólo se seleccionaron 45, de acuerdo al cumplimiento con los criterios de inclusión.

7.3 Control de calidad

Las prácticas de control de calidad interno y externo son las indicadas en el manual de Gestión de la Calidad de Laboratorios Gaya S.A de C.V.²⁵

7.4 Medidas de seguridad

El manejo de muestras potencialmente infecciosas es un riesgo que debe ser asumido por cualquier Laboratorio, por lo que cada institución debe tener un manual de medidas de seguridad de acuerdo al área en que se desempeñe el trabajo, siendo obligatorio lo siguiente:

- a. Lavado de manos
- b. Uso de guantes
- c. Uso de bata

Medidas de Seguridad de acuerdo a Laboratorios Gaya S.A de C.V. ²⁶

8. RESULTADOS

De la población en estudio se obtuvieron los siguientes resultados después de su análisis estadístico. De acuerdo a los resultados de IMC se seleccionaron 2 grupos; el primer grupo en normopeso con un total de 5 individuos (n=5) con un promedio de edad de 34 ± 2.3 , y un IMC de $22.8 \text{ kg/m}^2 \pm 0.9$ y el segundo grupo con sobrepeso y obesidad con un total de 40 individuos (n=40).

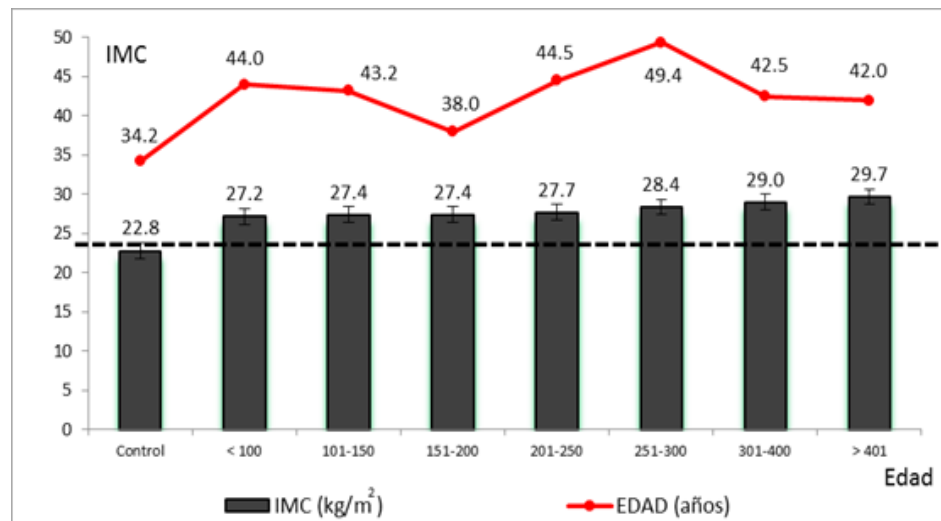
Del último grupo de acuerdo a la concentración de los Tg se hicieron siete subgrupos a) n=6, Tg<100 mg/dL, edad 44 ± 3.5 ; b) n= 5, Tg 101-150 mg/dL, edad 43 ± 3.8 ; c) n=7, Tg 151-200 mg/dL, edad 38 ± 2.6 ; d) n=6, Tg 201-250 mg/dL, edad 45 ± 3.4 ; e) n=5, Tg 251-300 mg/dL, edad 49 ± 3.4 ; f) n=6, Tg 301-400 mg/dL, edad 43 ± 3.4 ; g) n=5, Tg>400 mg/dL, edad 42 ± 3.4 . Se muestra un concentrado de los resultados en la tabla 3 y en la figura 5.

Tabla 3. Características etarias vs IMC de las poblaciones en estudio

GRUPOS (mg/dL de Tg)	IMC (kg/m ²)	EEM de IMC	EDAD (años)	EEM de EDAD
Control	22.8	0.9	34.2	2.3
Menor a 100	27.2	1.1	44.0	3.5
101-150	27.4	1.4	43.2	3.8
151-200	27.4	1.5	38.0	2.6
201-250	27.7	1.3	44.5	3.4
251-300	28.4	2.1	49.4	3.4
301-400	29.0	2.2	42.5	3.4
Mayor a 401	29.7	1.7	42.0	3.4

Los resultados expresan las medias poblacionales comparando IMC y edad, haciendo relevancia con el error estándar de la media.

Figura 5. Índice de masa corporal y edad de la población en estudio



Comportamiento del IMC de la población en estudio y la edad. La línea punteada negra representa el valor límite (25 kg/m^2) para considerar a un paciente con sobrepeso u obesidad. $R= 0.675$

Se ha descrito que el estilo de vida aunado a un incremento importante en el consumo de bebidas calóricas, alimentos con carbohidratos refinados; y sedentarismo, condiciona el desarrollo de sobrepeso u obesidad. En la figura 5 se observa que el incremento del IMC de los grupos de trabajo tiene una pobre correlación con la edad ($R= 0.675$). Esto sugiere que el efecto de la dieta hipercalórica puede desarrollar el sobrepeso y obesidad en la población, sin que la edad sea un factor tan determinante, lo que orienta más a que es consecuencia de los hábitos alimenticios y al sedentarismo.

Se ha demostrado que el exceso calórico induce numerosos cambios en el metabolismo y está estrechamente relacionada con disglucemia en ayuno y dislipidemia. Ejemplo de esto se puede ver en los resultados obtenidos en la tabla 4.

Tabla 4: Resumen de variables y su análisis poblacional utilizando el estadístico t.

GRUPOS	IMC (kg/m ²)	Glu (mg/dL)	CT (mg/dL)	Tg (mg/dL)	α (HDL)	PRE-β (VLDL)	β (LDL)	Qm
Control	22.8	93.2	162.2	83.4	51.8	27.8	86.1	0
< 100	27.2 *	94.5	155.3	67.8	37.0 *	24.8	88.9	0
101-150	27.4 *	92.5	176.0	124.0 *	38.6 *	47.4 *	87.1	0
151-200	27.4 *	96.0	171.0	171.0 *	30.8 *	58.9 *	78.9	0
201-250	27.7 *	94.2	189.5	229.2 *	31.1 *	72.7 *	65.9	0
251-300	28.4 *	105.8 *	194.2	285.6 *	27.1 *	83.7 *	83.4	0
301-400	29.0 *	105.5 *	191.3	348.7 *	20.5 *	97.3 *	73.6	0
> 401	29.7 *	105.0 *	194.4	456.2 *	19.5 *	118.4 *	56.5 *	0

Los resultados expresan las medias poblacionales, el * significa que existe diferencia estadísticamente significativa para una $p \geq 0.05$ con respecto al grupo control.

Una hormona clave en el inicio de estos procesos es la insulina, que promueve el almacenamiento adipocitario por mecanismos como: la promoción de la diferenciación de los preadipocitos a adipocitos (PPAR-γ y C/EBPα), en adipocitos maduros estimula la entrada de glucosa (GLUT 4), la lipogénesis mediante la activación de los transportadores de ácidos grasos (FABP, FAT y FATP) y la activación de glicerol-3P, favoreciendo así la síntesis de Tg por la DGAT1. Además, la insulina aumenta la absorción de ácidos grasos derivados de las lipoproteínas de VLDL mediante la estimulación de actividad de la LPL, así mismo promueve la inhibición de la lipólisis mediante la regulación negativa de la lipasa sensible a hormonas (LSH); todos estos mecanismos originaran procesos de hipertrofia adipocitaria e incremento de masa corporal.²⁷

En los individuos obesos, el tejido adiposo alcanza su máximo grado de elongación provocando que este se inflame liberando mayores cantidades de ácidos grasos no esterificados (AGNE), adipocinas y factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), que desregulan cascadas de señalización de insulina a través del receptor de insulina y de proteínas IRS-1 (substrato del receptor de la insulina 1), iniciando una carrera de desensibilización con la consecuente elevación de insulina para generar el efecto biológico deseado. La modulación negativa de la

acción de la insulina puede estar mediada a través de diversas vías que conducen a resistencia a la insulina como: factores inhibidores afectan a sus respectivos moduladores de señal (PKC, cJUN, IKK β , SOCS-3 e IL 6) que conducen a través de vías de desactivación a acciones inhibitorias sobre la señalización de insulina (IRS, PI3K, AKT/PKB). Además el TNF α minusregula la esterificación de ácidos grasos, incrementa los niveles de cAMP activando a LSH, mengua la función de LPL y disminuye la función de periplina vía TNFR-1. Todos estos factores están implicados en el desarrollo de sobrepeso y muy probablemente disglucemia y dislipemia que se observa en los grupos de trabajo.²⁷⁻²⁹

El efecto de la resistencia a la insulina (RI) que propicia la disminución de la lipogénesis adipocitaria genera un incremento del flujo de AGL desde el tejido adiposo a tejidos extra-adiposos, principalmente hígado e intestino; tejidos que cuando se exponen a hiperinsulinemia incrementan las tasas de lipogénesis de novo y disminuyen la oxidación de ácidos grasos, ante este incremento de lípidos intracelulares se hace más eficiente el montaje y secreción de Qm (apoB-48, enterocito) y VLDL (apoB-100, hepatocito), que al compartir los mecanismos de deslipidación terminan por acumularse, si además la acción de la LPL está relativamente disminuida, la elevación post-prandial de Qm remanentes (Qmr) o VLDL remanentes (VLDLr) conocidas como lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT) será inminente. Como los quilomicrones constituyen un substrato predominante de la LPL en comparación con las VLDL, se produce el catabolismo de los Qm y se propicia una acumulación de partículas VLDLr que satura la vía lipolítica de Tg provenientes principalmente del aporte endógeno, mismo comportamiento observado en los grupos en estudio; pues a medida que aumenta el IMC, se incrementan los Tg endógenos (VLDL) y no hay Tg exógenos (QM).²⁹⁻³¹

La hipertrigliceridemia y la disminución de HDL observada en la población en estudio, son los principales determinantes de la dislipidemia en obesidad, sin embargo no se deben considerar como eventos metabólicos aislados, pues existe evidencia de que la elevación de los Tg ejerce una acción profunda sobre el destino metabólico de las subclases VLDL, LDL y HDL. Ante el catabolismo

disminuido de las LRT, estas permanecen mayor tiempo en circulación, lo que permite un aumento del intercambio de los lípidos del núcleo, Tg y colesterol esterificado (CE) entre las LRT y las LDL, mediado por las proteínas transferidoras de fosfolípidos PLTP (*phospholipid transfer protein*), que incluyen a CETP (cholesterol ester transfer protein), LBP (*lipopolysaccharide-binding protein*), y BPI (*bactericidal/permeability increasing protein*); enriqueciendo de Tg a las LDL. Estas LDL ricas en Tg constituyen un substrato preferente para la lipasa hepática (LH), resultando finalmente en la formación de LDLsd, con un cociente entre CE/CT aumentado. Pero las HDL también realizan un intercambio de lípidos del núcleo con las LRT mediado por PLTP, originando HDL ricas en Tg o HDL densas (HDLd), de este modo la tasa catabólica de las HDL se potencia y da lugar a una disminución de los niveles de HDL, un aumento de HDLsd y la disociación de las apoA-I de las HDL incrementando sus concentraciones plasmáticas.³²⁻³⁴ Estos mecanismos descritos podrían explicar la disminución estadísticamente significativa de las concentraciones de HDL, la ausencia de Qm y el incremento de las VLDL prácticamente desde el inicio del sobrepeso, esto es indicativo de que existe un aumento en la deslipidación de HDL y la formación de HDLsd debido a un exceso de LRT. Pero como se describió anteriormente tendrían que estar disminuidos los niveles de LDL, pues se están formando LDLsd por el mismo mecanismo de formación de HDLsd, esto aparentemente no sucede en la población en estudio pues no existe una disminución estadísticamente significativa de las concentraciones de LDL, solo en el subgrupo de >400 mg/dl existe diferencia significativa en el incremento de LDL, por lo que no hay evidencia por este método de la formación de LDLsd.

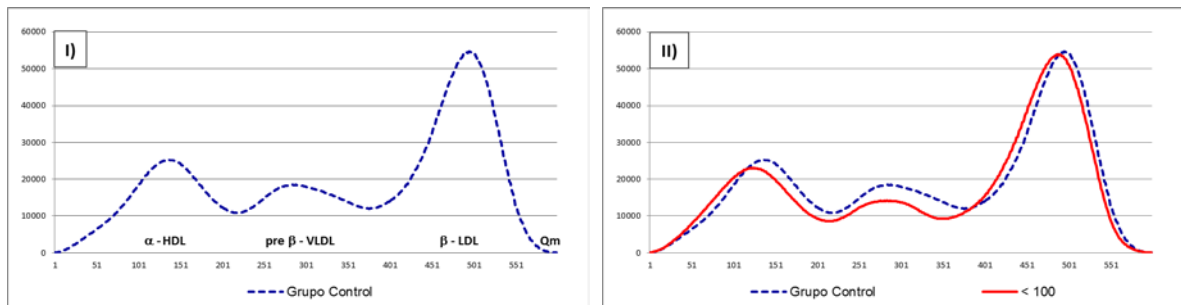
Robert Superko, indica que se deben utilizar marcadores más eficientes que arrojen información sobre aspectos sutiles pero importantes de las lipoproteínas que ayuden a explicar el relativo fracaso de la estrategia de reducción de LDL, pues es un marcador cardiovascular de elevación tardía. Recientemente se han utilizado las diferentes distribuciones plasmáticas de las diferentes fracciones de lipoproteínas como métodos de diagnóstico de dislipidemia y enfermedades cardiovasculares.³⁵⁻³⁶

Lipoproteinogramas de los grupos en estudio.

De los resultados de los corrimientos electroforéticos arrojados por el equipo *Genio* de Interlab™, se obtuvieron los datos numéricos de la transformación densitométrica, utilizando el programa de software *Elfolab*™. Este software toma una foto dependiendo de la escala de grises vs el número de veces que se repite un dato (la moda), convirtiéndolo en números, al ponerlos en una hoja de Excel da como resultado el lipoproteinograma. Anexo 5

Una vez esto se realizó el mismo procedimiento para cada uno de los grupos en estudio obteniéndose el comportamiento de la media de cada una de las fracciones, posteriormente se realizó el análisis estadístico de las muestras poblacionales de los grupos en estudio vs grupo control, obteniéndose las gráficas tipo de los lipoproteinogramas.

Gráfico 1: Lipoproteinogramas de la población de referencia y subgrupo <100 mg/dL



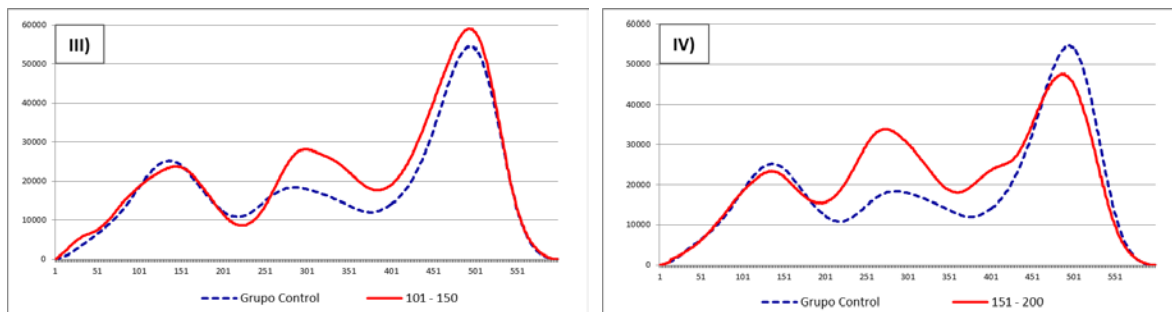
La línea punteada azul significa las medias poblacionales del comportamiento del grupo control y la línea continua roja representa las medias poblacionales del comportamiento del subgrupo <100 mg/dL de Tg

El lipoproteinograma I; línea punteada azul representa el patrón electroforético promedio de las medias poblaciones del grupo control, en este se observa la distribución de las fracciones α (HDL), pre- β (VLDL), β (LDL) y la ausencia de Qm; el lipoproteinograma II representa el comportamiento promedio del subgrupo (<100 mg/dL de Tg) línea roja; comparado con el grupo control; se observa un decremento en las regiones α y pre- β , indicativo de que el fenotipo inicial en la

población estudiada no es el fenotipo clásico de hipertrigliceridemia y HDL bajo; sino que inicialmente bajan cualitativamente los dos; este decremento de las HDL, también es cuantitativamente estadísticamente significativo con respecto al grupo control (37.0 ± 3.6 vs 51.8 ± 1.5).

Rhasid y cols, en el 2007 encontraron en poblaciones obesas aclaramiento inicial adipocitario de la subfracción HDL₂ y la subfracción pre-β1 de HDL; una mayor deslipidación de HDL por la LPL y un incremento en el catabolismo de la apolipoproteína apoA-1, mecanismos que podrían explicar la disminución inicial de HDL.^{37,38} Por otra parte los Tg (al no haber Qm) son exclusivamente endógenos (VLDL), y sufren un decremento cualitativo en la gráfica, pero su cuantificación tiene un incremento significativo con respecto al grupo control (24.8 ± 3.6 vs 27.8 ± 1.5). Esto sugiere que la relación Tg/Col (50-55/12-15) no está distribuida uniformemente en las VLDL, originando heterogeneidad en las partículas, efecto que se observa en el lipoproteinograma II donde la curva pre-β es más ancha en el grupo <100 vs grupo control; esta característica pudiera indicar un aclaramiento exacerbado de lípidos por parte del adipocito, Rasmus Siersbaek y cols., en el 2012 describen que la estimulación inicial de este aclaramiento es probablemente un incremento en la insulina, glucocorticoides y cAMP que presenta el individuo ante el exceso calórico.^{39, 40}

Gráfico 2: Lipoproteinogramas de subgrupos 101 - 150 y 151 - 200 mg/dL vs grupo control.



La línea punteada azul significa las medias poblacionales del comportamiento del grupo control y la línea continua roja representa las medias poblacionales del comportamiento del subgrupo 101-150 y 151-200 mg/dL de Tg respectivamente.

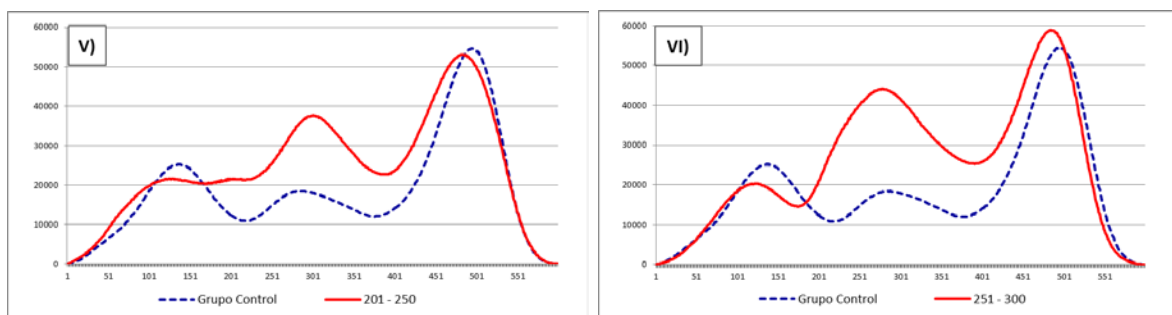
En el lipoproteinograma III se observa que a medida que avanza el incremento de Tg séricos, el comportamiento de las cHDL continúa siendo heterogéneo y estadísticamente significativo a la baja, línea roja; (38.6 ± 1.3 y 30.8 ± 2.8 vs 51.8 ± 1.5). Esta disminución ha sido reportada como una constante en pacientes con obesidad y RI. Mientras que en el lipoproteinograma IV, subgrupo 151 – 200 mg/dL de Tg inicia un ligero desplazamiento hacia la región pre- β , línea roja; siendo esto indicativo de heterogeneidad de partículas. Mooradian en el 2008 reporta que los mecanismos que contribuyen a la disminución de HDL, es la sobreproducción de ácidos grasos libres (AGL) y VLDL; la alteración enzimática de proteína transferidora de fosfolípidos (PLTP), lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), lipasa hepática (LH) y la proteína transferidora de esteres de colesterol (CETP); aunado a un incrementado aclaramiento plasmático de apoA-1 y su producción disminuida.

Además Rashid y cols correlacionan esta baja de HDL con la disminución de sensibilidad y resistencia a la Insulina, disfunción endotelial y el inicio de los procesos de disglucemia. Gotto y cols., encontraron que una disminución de 5 mg/dL de HDL incrementa un 14% el riesgo de ECV, y Brewer y cols reportan que el incremento de 1 mg/dL reduce el riesgo en 2-3%. Estos mecanismos podrían explicar el comportamiento glucémico del subgrupo 101-150, cuyo nivel de glucosa sérico (92.5 ± 3.5) no es estadísticamente significativo, pero es indicativo de una desregulación inicial de señalización entre la insulina y sus tejidos blanco.³⁹⁻⁴¹

Las curvas patrón de los lipoproteinogramas III y IV de los subgrupos 101-150 y 151-200 mg/dL respectivamente, indican una moderada elevación de la fracción endógena de los Tg (VLDL); pero su cuantificación refleja un incremento del 148.7 % y 205.0 %, línea roja, (124 y 171.0 mg/dL) con respecto al grupo control, línea punteada azul (83.4 mg/dL), estos datos sugieren una heterogeneidad bioquímica de las VLDL, fenómeno que se puede observar en el ensanchamiento y desplazamiento de la curvas de los grupos en estudio hacia la zona β (LDL).

Las VLDL son consideradas un grupo heterogéneo de partículas con una densidad entre 0.930 a 1.006 g/mL y no presentan toxicidad al endotelio. Kawakami en el 2012 mediante técnicas de cromatografía de intercambio aniónico logró subclasificar la heterogeneidad de las VLDL de pacientes con síndrome metabólico (SM) en 5 subfracciones (V1-V5) dependiendo de su electronegatividad y tamaño; determinó que existe una disparidad funcional entre las partículas, siendo VLDL tipo V5 la más electronegativamente cargada y con una mayor citotoxicidad (por inducción de apoptosis) sobre células endoteliales de aorta humana. Demostró que existe una relación directa con los Tg plasmáticos, Apo C, E y el IMC; e inversa con apoA1 y HDL.⁴² Estos resultados sugieren que a medida que la población de VLDL sea más heterogénea, mayor será el riesgo de ECV, RI, SM y diabetes mellitus (DM).

Gráfico 3: Lipoproteinogramas de subgrupos 201 - 250 y 251 - 300 mg/dL vs grupo control.



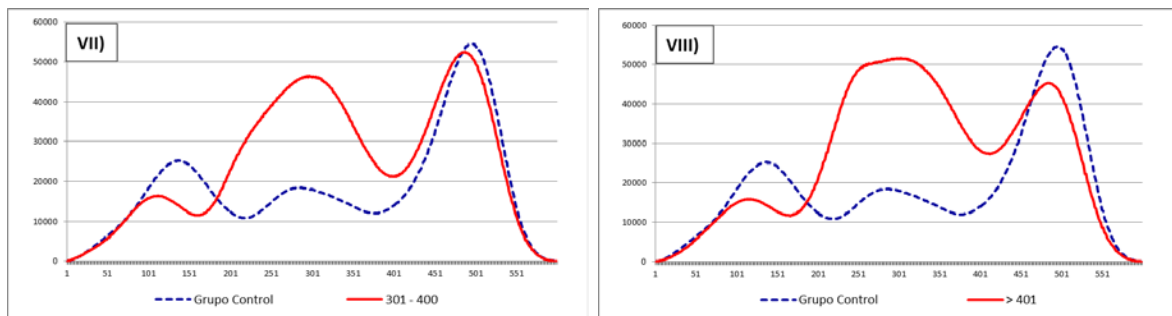
La línea punteada azul significa las medias poblacionales del grupo control y la línea continua roja representa las medias poblacionales del subgrupo 201-250 y 251-300 mg/dL de Tg respectivamente.

Los lipoproteinogramas V y VI de los subgrupos 201-250 y 251-300 mg/dL, indican una franca elevación de la fracción endógena de los Tg (cVLDL). Su cuantificación refleja un incremento del 274.8% y 342.4% (229.2 y 285.6 mg/dL) con respecto al grupo control (83.4 mg/dL). Este comportamiento indica que la formación de cVLDL ricas en Tg o también conocidas como LRT se hace franca en estos grupos; donde la base se hace más heterogénea a medida que se incrementan los Tg.

Estudios realizados por Choi y cols en pacientes con RI indican que: la lipogénesis de *novo* de Tg está aumentada por el sobre estímulo de ChREBP y PPAR γ ; que los AGL estimulan la formación de apoB y son responsables del 80% de los Tg; que no existe inhibición de MTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein) y la degradación de apoB esta disminuida; estos procesos en conjunto propician una secreción hepática de VLDL ricas en Tg. Hanyu O, describe que existe una disminución de la actividad de LPL y un mal catabolismo de ellas, por lo que las LRT permanecen más tiempo circulantes, esto hace que las LRT sean de mayor diámetro que las VLDL (30-70 nm), por lo que se sub clasificaron en LRT V6 (100-120 nm) y LRT V5 (60-80 nm) como las de mayor aterogenicidad.³⁸

Las gráficas indican que la formación de LRT se hace franca en estos grupos, donde la base se hace más ancha sobre todo en el subgrupo de 251-300 mg/dL; se ha vinculado a las LRT con la activación de vías de señalización ERK1/2 y p38MAPK, originando una sobreexpresión de genes diana como: PAI-1, VCAM-1, ELAM-1, PECAM-1, MCP-1, ADAMTS1 e IL 6, implicando principalmente a NF-kB y CREB como los factores de transcripción involucrados; estos mecanismos de respuesta inducidos por las LRT desarrollan disfunción endotelial, induciendo estados pro-inflamatorios y pro-trombóticos en pacientes con sobrepeso.⁴³

Gráfico 4: Lipoproteinogramas de subgrupos 301 - 400 y >400 mg/dL vs grupo control.



La línea punteada azul significa las medias poblacionales del comportamiento del grupo control y la línea continua roja representa las medias poblacionales del comportamiento del subgrupo 301-400 y >400 mg/dL de Tg respectivamente.

En las curvas patrón de los lipoproteinogramas de los subgrupos 301-400 y >400 mg/dL se observan finalmente los tres comportamientos conocidos como la triada dislipémica:

I) La región pre-beta (VLDL) continúa incrementando cuantitativamente 418.1% y 547.0% (348.7 y 456.2 mg/dL) con respecto al grupo control (83.4 mg/dL) y cualitativamente al observarse un aumento de la base de la curva; esto indica que la formación de las VLDL ricas en triglicéridos (LRT) continúa siendo inducida en el hepatocito, que está disminuido su catabolismo y que los mecanismos pro-inflamatorios y pro-trombóticos están desarrollando disfunción endotelial.

II) En la región beta (LDL) la diferencia estadísticamente significativa es hasta el subgrupo >400 mg/dL (56.5 vs 86.1 mg/dL); pero al observar el comportamiento cualitativo, en el subgrupo 151-200 mg/dL se observa un desplazamiento de la base a la región pre β y posteriormente este desplazamiento se acentúa en toda el área incluyendo la moda grupal desde el subgrupo 201-250 mg/dL hasta el subgrupo >400 mg/dL; esto sugiere una heterogeneidad bioquímica de las LDL. Evan A. y cols., en el 2011 describen una subclasificación de las LDL cuyo origen es el intercambio de los lípidos del núcleo (Tg y CE) con las LRT y su deslipidación por la LH resultando 5 subtipos (LDL₁-LDL₅) cuyas fracciones LDL₄ y LDL₅ son pequeñas y densas (LDLsd) con un diámetro promedio de 18.3-21.2 nm y un incremento de apoC-III, facilitando su internalización a la túnica íntima. Ahí pueden sufrir dos procesos:

i) ser hidrolizadas por la fosfolipasa (Lp-PLA₂) en ácidos grasos oxidados y lisofosfatidilcolina (LPC), este mecanismo induce al endotelio a expresar CXCL1 que recluta más monocitos potenciando así la inflamación.

ii) ser transformadas en LDL oxidadas (LDLox) por el incremento de superóxido dismutasa 3 (SOD3) y el decremento de araquidonato 5 lipooxigenasa (FLAP); estas LDLox generadas son fagocitadas por macrófagos mediante dos mecanismos:

- a) mediante CD36-TLR4-TLR6 que vía MyD88 activa a NF- κ B propiciando el estado inflamatorio por secreción de quimiocinas (MCP-1).
- b) mediante TLR2/6, cuya activación desarrolla vía ERK y NADPH oxidasa especies reactivas de oxígeno (EROS), mismas que inducen apoptosis y más conversión de LDLsd a LDLox.

Además este exceso intracelular de colesterol libre en los macrófagos promueve: estrés del retículo endotelial (ER) potenciando la producción de EROS; daño fagolisosomal que induce la formación del inflamosoma y la activación de caspasa 1 con la consecuente secreción de IL-1 β ; la activación del receptor nuclear PPAR γ que a través de LXR induce la expresión de SRB-1, ABCA1 y ABCG1 aumentando el aclaramiento de HDL. Todos estos procesos inician un estado aterogénico sistémico por mecanismos como: formación de macrófagos hipertróficos, hiperlipídicos y proinflamatorios (células espumosas); aumento de PAI-1 por endotelio; aumento del TGF- β por células mesangiales; incremento de peroxidación de lípidos de membrana a través de la activación de NADPH oxidasa; decremento de Glut4 en miocitos; aumento de eflujo de colesterol por la vía de SREBP e HMGCoA reductasa, la mieloproliferación al modificar la presentación y señalización de células hematopoyéticas *stem cells*; y el incremento de EROS.⁴³⁻⁴⁷ Por ello la observación de curva heterogénea y desplazada hacia la región pre β indica muy probablemente una disfunción en el catabolismo y transformación de LDL a LDLsd - LDLox.

III) La disminución de la región α ó HDL, esta región alfa es la primera fracción que inició su disminución; cuantitativamente inicio con una disminución de 28.6% (37.0 vs 51.8 mg/dL) y terminó en 62.3% (19.5 vs 51.8 mg/dL). Analizando su comportamiento cualitativo en el lipoproteinograma, se observa una disminución desde el primer subgrupo (Tg <100 mg/dL) indicativo de que es una de las primeras alteraciones de los lípidos. Jaye M en 1999, describe una lipasa derivada de endotelio (EL) capaz de modular las concentraciones de HDL, posteriormente se demostró que la EL es un regulador negativo de la HDL y el transporte reverso

de colesterol (TRC); que su sobreexpresión provoca una disminución de HDL, un decremento en el TRC y un aumento en ECV. Está determinado que en los procesos inflamatorios, citosinas como el TNF- α mediante NF- κ B regula la expresión de EL, por lo que la disminución de HDL es indicativo de que el proceso inflamatorio vía TNF- α se está llevando a cabo dese el grupo inicial.⁴⁹⁻⁵¹

Posteriormente en el grupo 151-200 y 201-250 mg/dL se observa un comportamiento heterogéneo con pérdida del valle y un desplazamiento hacia la zona pre- β . Wróblewska M. describe la fracción pre- β HDL como una población heterogénea discoidal de partículas de HDL nacientes, generadas por la interacción entre los macrófagos (ABCA1) y monomoléculas de apo A1 libres en plasma, su maduración en α HDL esféricas (maduras) es mediada por la LCAT, esta generación de pre β HDL y su maduración a α HDL es una de las principales medidas de protección aterogénica al ser crucial en el TRC; los hallazgos en estas dos subpoblaciones es un indicativo de que el sistema está tratando de compensar la dislipidemia mediante la producción exacerbada de pre β HDL.^{52,53}

Finalmente en los subgrupos 251-300 hasta el >400 mg/dL se observa la disminución y el desplazamiento de la curva de HDL hacia la región pre- α , línea roja; esta zona se caracterizada por presentar partículas con mayor densidad; se ha demostrado que el dominio 89-99 de apoA-1 es muy importante para la homeostasis de CT y Tg, encontrándose que la modificación de D89/E91/E92 altera la carga y conformación de apoA-1; este cambio incrementa la activación de LCAT e incrementa su afinidad por VLDL/IDL originando la formación de HDL ricas en Tg, con un cociente bajo de CE/CT y de forma discoidal; esta modificación origina una mayor hidrolisis de HDL por la LH originando HDL pequeñas (α_4 y α_3), estas α_4 HDL y α_3 DHL asociadas con LCAT son más rápidamente catabolizadas por el riñón.⁵⁴⁻⁵⁷ Resulta entonces que el desplazamiento de la curva de HDL hacia la región alfa significa una disminución de HDL, apoA-1 y LCAT, formación de HDLsd/ox, hipertrigliceridemia severa y aumento del riesgo de ECV.

Correlación de Tg vs cHDL de las poblaciones en estudio

La figura 6, muestra el comportamiento que tienen las variables Tg vs cHDL; se observa el incremento de la concentración de Tg y la disminución en la concentración de cHDL de los grupos de trabajo, el valor de $R = -0.8762$ lo que indica un relación inversamente proporcional, es decir, que mientras una aumenta la otra disminuye al mismo tiempo.

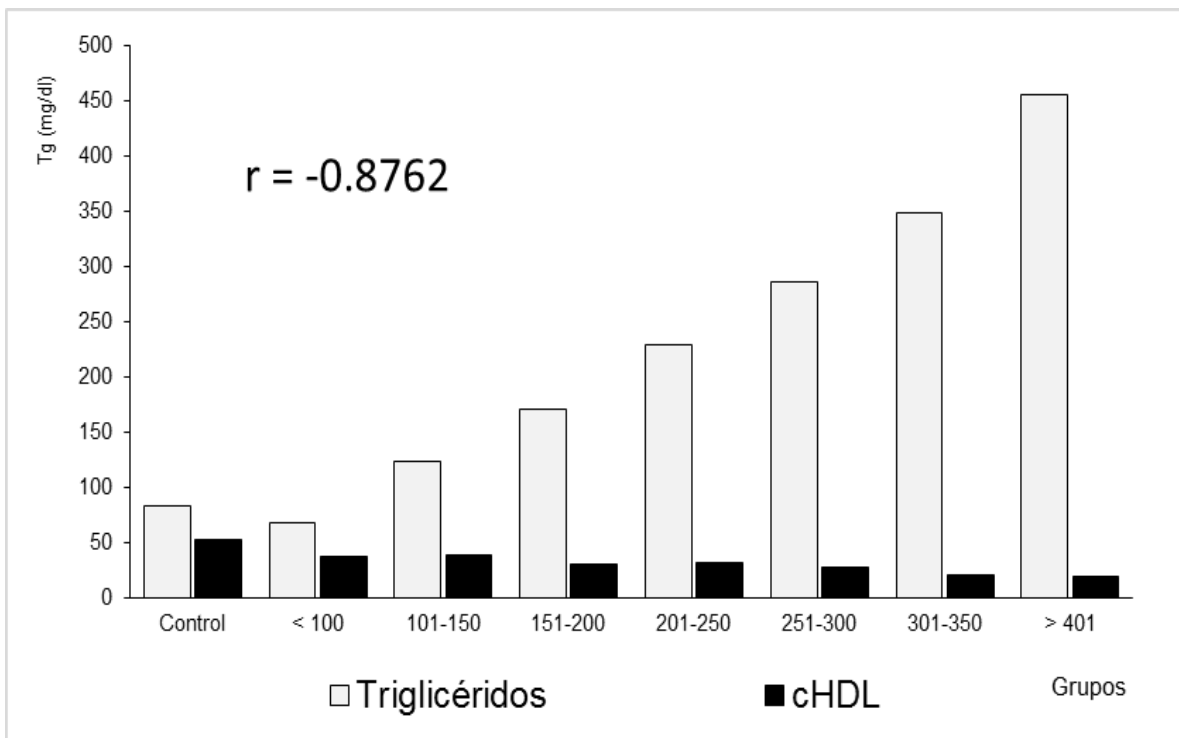


Figura 6. Correlación de las medias poblaciones, Tg vs cHDL.

9. CONCLUSIONES

Se encontró que los subgrupos <100 y 101-150 mg/dL presentan normoglicemia, normolipemia pero hipoalfalipoproteinemia; en los subgrupos 151-200 y 201-250 mg/dL presentan normoglicemia, normocolesterolemia, hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia y los subgrupos 251-300, 301-400 y >400 mg/dL presentan glucosa alterada en ayuno, hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia.

En las gráficas tipo obtenidas la fracción α (HDL) es el primer transportador que se modifica cualitativamente en pacientes con sobrepeso, inicialmente con la formación de pre β HDL y culminando con pre α HDL. La fracción pre- β (VLDL) inicialmente es aclarada por el sistema y posteriormente incrementa su concentración con un ensanchamiento de la base de la curva y heterogeneidad.

La fracción β no se modifica sustancialmente en concentración, pero conforme avanza el IMC, ésta tiende a migrar a la región pre- β . A partir del subgrupo 201-250 hasta el >400, se observa un desplazamiento de toda el área de la curva hacia la región pre- β .

El incremento de Tg ocasiona hipertrigliceridemia alcanzando un aumento del 547.0% respecto al grupo control.

La alfalipoproteína (HDL) disminuye de 28.6 % a 62.3%.

La pre beta lipoproteína (VLDL) primero decae, para posteriormente incrementarse hasta 425.9 %.

La región beta (LDL) sólo se modifica con significancia estadística hasta el último subgrupo con una disminución del 34.4%.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Furgione Anjelo. MD, Sánchez. Deysiree BSc, Scott. Geraldine BSc, Luti. Yettana Bsc Arraiz. Naile PhD, Bermúdez. Valmore MD, MPH, PhD, Velasco Manuel MD. Dislipidemias primarias como factor de riesgo para la enfermedad coronaria. Revista Latinoamericana de Hipertensión. Vol. 4 N° 1, 2009
2. Troyo-Barriga Paris. Obesidad y dislipidemias. Gac Méd Méx Vol. 140, Suplemento No. 2, 2004
3. Barba Evia José Roberto. Lípidos, aterogénesis y riesgo coronario. Rev. Mex Patol Clin, Vol. 52, Núm. 3, pp 176-189. Julio-Septiembre 2005
4. Clinical Science www.clinsci.org Clin. Sci. (2008)
5. Saludymedicinas.com.mx
6. Brandan, Nora. Lipoproteínas. Cátedra de Bioquímica. Universidad Nacional del Nordeste. 2006
7. Dres. Leonidas Delgado Butrón (*) y Emilio Guija Poma (**). Metabolismo de las lipoproteínas. Simposio primera parte. Diagnóstico. Volumen -38. Número-3. Mayo – Junio 1999
8. Vázquez-Contreras Edgar. Características de las principales lipoproteínas en suero humano. Instituto de Química, UNAM 2003
9. Campos-Nonato I, Aguilar Salinas C. Barquera S. Diagnóstico de Dislipidemias. Cap. V. 2012
10. Beers MH, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwits M (Eds.). El Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento. Madrid: Elsevier; 2007
11. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark DE 19714 U.S.A. Dimension Clinical Chemistry System. Colesterol. REF DF 27. 2008-03-04
12. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark DE 19714 U.S.A. Dimension Clinical Chemistry System. Colesterol HDL automatizado. REF DF 48B. 2009-07-22
13. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark DE 19714 U.S.A. Dimension Clinical Chemistry System. Triglicéridos. REF DF 69A 2008-02-29
14. InterlabS.r.l. Via Rina Montis 26-00155. Genio. Electroforesis de lipoproteínas. Ref. SRE 152K-SRE 146K-SRE 175K-SRE 187K. Roma Italia. 2005.
15. Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS. Fat transport in lipoproteins an integrated approach to mechanisms and disorders. N Engl J Med 1967; 276:34-42.

- 16.** Gilberto Ángel M. Interpretación Clínica del Laboratorio. 6a Edición. Bogota D.C. Colombia, Editorial Médica Panamericana. 2000
- 17.** Munguía-Miranda C y col. Prevalencia de dislipidemias en una población de sujetos en apariencia sanos y su relación con la resistencia a la insulina. Salud pública de México / vol. 50, no. 5, Septiembre-Octubre de 2008
- 18.** Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, Pedroza-Tobías A, Rivera-Dommarco JA. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. Salud Pública Mex 2013.
- 19.** Aguilar-Salinas CA y col. Características de los casos con dislipidemias mixtas en un estudio de población: resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. Salud pública de México / vol. 44, no. 6, Noviembre-Diciembre de 2002.
- 20.** NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.
- 21.** American Diabetes Association (ADA) 2014
- 22.** Manual de referencia de Toma de muestra de los Laboratorios Italo Gaya Capellini S.A. de C.V.
- 23.** Manual del usuario del Sistema Dimension RxL 2009. Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
- 24.** García Pérez Hilda Marilyn. Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia. Laboratorios Beterá. UNIV DIAG 2000
- 25.** Manual de referencia de Gestión de la Calidad de los Laboratorios Italo Gaya Capellini S.A. de C.V.
- 26.** Manual de referencia de Medidas de Seguridad e Higiene. Laboratorios Italo Gaya Capellini S.A. de C.V.
- 27.** Adilson Guilherme, Joseph V. Virbasius. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2008; 9, 367-377
- 28.** Barbara B. et al, Obesity and insulin resistance. J Clin Invest. 2000; 106 (4):473–481.
- 29.** Steven E. Kahn et al. Review Article Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature 444, 840-846 (2006)
- 30.** Zhiyong Cheng, Morris F White. The AKTion in non-canonical insulin signaling. Nature Medicine. Volume: 18, Pages: 351–353 (2012)

- 31.** H el ene Dueza, Mirjana Pavlic. Mechanism of intestinal lipoprotein overproduction in insulin resistant humans. *Atherosclerosis Supplements*. Volume 9, Issue 2, September 2008, Pages 33–38
- 32.** Jelena Vekica. Small, dense LDL cholesterol and apolipoprotein B: Relationship with serum lipids and LDL size. *Atherosclerosis*. Volume 207, Issue 2, December 2009, Pages 496–501
- 33.** John D. Brunzella. The effect of hepatic lipase on coronary artery disease in humans is influenced by the underlying lipoprotein phenotype. *Molecular and Cell Biology of Lipids*. Volume 1821, Issue 3, March 2012, Pages 365–372
- 34.** Xian-Cheng Jiang, et al. The impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on lipoprotein metabolism. *Nutrition & Metabolism* 2012, 9:75
- 35.** H. Robert Superko, Advanced Lipoprotein Testing and Subfractionation Are Clinically Useful. *Circulation*. 2009; 119: 2383-2395
- 36.** Sizuo Kajiyama et al. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutrition Research*. Volume 28, Issue 3, March 2008, Pages 137–143
- 37.** Rashid S, Genest J. Effect of obesity on high-density lipoprotein metabolism. *Obesity*. 2007 Dec; 15(12):2875-88.
- 38.** Mooradian AD. Obesity-related changes in high-density lipoprotein metabolism. *Obesity*. 2008 Jun; 16 (6):1152-60.
- 39.** Sung Hee Choi. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends endocrinology and metabolism*. Volume 22, Issue 9, 2011, Pages 353–363
- 40.** Rasmus Siersbek. Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends endocrinology and metabolism*. Volume 23, Issue 2, February 2012, Pages 56–64
- 41.** Hao Wang. New insights into the mechanism of low high-density lipoprotein cholesterol in obesity. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 176.
- 42.** Chu-Huang Chen y cols. Effects of Electronegative VLDL on Endothelium Damage in Metabolic Syndrome. *Diabetes Care* 2012; 35: 648–653
- 43.** G.D. Norataa. Triglyceride-rich lipoproteins from hypertriglyceridemic subjects induce a pro-inflammatory response in the endothelium: Molecular mechanisms and

- gene expression studies. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. Volume 40, Issue 4, April 2006, Pages 484–494
- 44.** Hector Malave. Evaluation of Low-Density Lipoprotein Particle Number Distribution in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus With Low-Density Lipoprotein Cholesterol <50 mg/dl and Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol <80 mg/dl. *The American Journal of Cardiology*. Volume 110, Issue 5, 1 September 2012, Pages 662–665
- 45.** Evan A. Stein Assessment of Reaching Goal in Patients with Combined Hyperlipidemia: Low-Density Lipoprotein Cholesterol, Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol, or Apolipoprotein B. *The American Journal of Cardiology* Volume 96, Issue 9, Supplement 1, 7 November 2005, Pages 36–43
- 46.** Marielle Kaplan. Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacology & Therapeutics*. Volume 136, Issue 2, November 2012, Pages 175–185
- 47.** Richard L. Kleina. Apolipoprotein C-III protein concentrations and gene polymorphisms in type 1 diabetes: Associations with lipoprotein subclasses. *Metabolism*. Volume 53, Issue 10, October 2004, Pages 1296–1304
- 48.** Christian Weber & Heidi Noels. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nature Medicine*. 2011, 17, 1410–1422
- 49.** Yasuda T, Ishida T, Rader DJ. Update on the role of endothelial lipase in high-density lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis. *Circ J*. 2010 Nov; 74(11):2263-70
- 50.** Annema W, Tietge UJ. Role of hepatic lipase and endothelial lipase in high-density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep*. 2011 Jun; 13(3):257-65
- 51.** Annukka M. Kivelä. Sulforaphane inhibits endothelial lipase expression through NF- κ B in endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2010, Volume 213, Issue 1, Pages 122–128
- 52.** Wróblewska M. The origin and metabolism of a nascent pre- β high density lipoprotein involved in cellular cholesterol efflux. *Acta Biochim Pol*. 2011; 58 (3):275-85
- 53.** Dana Bailey, et al., Analysis of lipid transfer activity between model nascent HDL particles and plasma lipoproteins: implications for current concepts of nascent HDL maturation and genesis. *J Lipid Res*. 2010 April; 51(4): 785–797

- 54.** Eva Morán-Salvador. Role for PPAR γ in obesity-induced hepatic steatosis as determined by hepatocyte- and macrophage-specific conditional knockouts. 2011 The FASEB Journal vol. 25 no. 8 2538-2550
- 55.** Zhang W, et al., Characterization of phospholipids in pre-alpha HDL: selective phospholipid efflux with apolipoprotein A-I. J Lipid Res. 1998 Aug; 39(8):1601-7
- 56.** Andreas K. Kateifides. Alteration of negatively charged residues in the 89 to 99 domain of apoA-I affects lipid homeostasis and maturation of HDL. J Lipid Res. 2011 July; 52(7): 1363–1372
- 57.** Robert S. Rosenson. HDL Measures, Particle Heterogeneity, Proposed Nomenclature, and Relation to Atherosclerotic. Cardiovascular Events. Clinical Chemistry 57:3 392–410 (2011)

11. APÉNDICES

1. Carta de consentimiento informado

Carta de consentimiento informado

Nombre completo de la persona a participar

Estimado señor o señora:

- I. Usted ha sido elegido para participar en un estudio de investigación; realizado en Laboratorios Italo Gaya Capellini S.A de C.V. La entrevista durará de 3 a 5 minutos.

El objetivo principal del estudio es obtener resultados que serán utilizados para el desarrollo de una tesis referente al área de Química Clínica.

Puede dejar preguntas sin responder o terminar la entrevista en cualquier momento. Las respuestas que usted proporcione serán completamente confidenciales y anónimas. No recibirá pago alguno por su participación pero está tampoco le ocasionara gastos.

Una vez información sobre el procedimiento que se llevara a cabo, otorgo en forma libre mi consentimiento.

SI NO a: Laboratorios Italo Gaya Capellini S.A. de C.V.

para la realización de los exámenes (colesterol, colesterol HDL, triglicéridos y electroforesis de lipoproteínas) solicitado por: _____

- II. Como parte de este estudio autorizo efectuar:

SI NO a: La extracción de sangre necesaria para la realización de Análisis Clínicos.

SI NO a: La realización del registro de datos como: estatura, peso, estilo de vida y antecedentes familiares.

Hago constar que el presente documento ha sido leído y entendido por mi integridad, de manera libre y espontánea.

Firma de autorización

2. Cuestionario

Cuestionario

1. Nombre completo:

2. Edad: _____

Sexo: _____

3. Peso: _____

Talla: _____

4. Índice de masa corporal (IMC): _____

5. ¿Realiza ejercicio? NO

SI Con qué frecuencia: _____

6. ¿Padece alguna enfermedad? NO

SI Cual enfermedad: _____

7. ¿Tiene familiares obesos o con problemas de sobrepeso?

8. ¿Es diabético? NO

SI.....Tiempo de evolución: _____

Tratamiento farmacológico: NO

SI Cual: _____

9. ¿Tiene familiares diabéticos o hipertensos?

10. ¿Practica alguna de las siguientes adicciones?

Ingesta de alcohol: _____

Fumar cigarrillo: _____

3. Cédula de recolección de datos

GRUPOS FORMADOS Y ELECTROFORESIS EN MG/DL													
Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes grupo control													
PACIENTE	SEXO	EDAD	PESO	OBESIDAD				ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL					
				TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)	
1005180023	M	35	61.5	1.62	23.4	89	134	58	0	63.7	27.6	52.3	
1005190030	M	42	64.0	1.72	21.6	98	172	82	0	82.9	25.1	55.2	
1005200015	M	27	65.5	1.72	22.1	93	178	79	0	104.3	30.7	51.5	
1005200020	M	34	69.5	1.74	23.0	92	185	107	0	111.4	26.5	49.8	
1005210034	M	33	70.0	1.72	23.7	94	142	91	0	68.2	29.3	50.2	
SUMA		171	331	8.52	113.8	466	811	417	0	431	139	259	
PROMEDIO		34	66.1	1.70	22.8	93.2	162.2	83.4	0.0	86.1	27.8	51.8	
SD		5.4	3.6	0.0	0.9	3.3	22.7	17.9	0.0	21.2	2.2	2.1	
EEM		2.3	1.9	0.2	0.9	1.8	4.8	4.2	0.0	4.6	1.5	1.5	
Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con < 100 mg/dl de Triglicéridos													
PACIENTE	SEXO	EDAD	PESO	OBESIDAD				ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL					
				TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)	
1005180038	M	41	77.0	1.67	27.6	94	203	97	0	114.1	45.3	43.6	
1005190026	F	50	78.0	1.69	27.3	98	163	58	0	89.5	15.5	58.0	
1005190029	M	57	87.0	1.82	26.3	102	137	73	0	90.7	20.4	25.9	
1005200027	M	52	74.0	1.71	25.3	93	110	80	0	61.1	13.1	35.9	
1005210013	F	23	81.0	1.67	29.0	88	188	49	0	104.3	17.9	37.8	
1005210031	F	41	80.0	1.70	27.7	92	131	50	0	73.5	36.7	20.8	
SUMA		264	477	10.26	163.2	567	932	407	0	533.2	148.9	222	
PROMEDIO		44	79.5	1.71	27.2	94.5	155.3	67.8	0.0	88.9	24.8	37.0	
SD		12.1	4.4	0.1	1.3	4.9	35.7	18.9	0.0	19.4	13.1	13.2	
EEM		3.5	2.1	0.2	1.1	2.2	6.0	4.4	0.0	4.4	3.6	3.6	

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con 101 - 150 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL									
			PESO	TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)			
1005180015	M	31	75.5	1.70	26.1	95	203	120	0	94.8	53.0	40.9			
1005190034	M	31	88.0	1.70	30.4	106	177	110	0	108.7	30.4	37.9			
1005200018	F	53	60.0	1.53	25.6	87	146	132	0	67.6	38.4	40.0			
1005200028	M	37	76.5	1.70	26.5	101	184	139	0	85.2	61.6	37.2			
1006090098	F	64	68.0	1.55	28.3	73	170	119	0	79.2	53.7	37.1			
SUMIA		216.0	368.0	8.2	137.0	462.0	880.0	620.0	0.0	435.5	237.1	193.1			
PROMEDIO		43	73.6	1.64	27.4	92.4	176.0	124.0	0.0	87.1	47.4	38.6			
SD		14.7	10.4	0.1	2.0	13.0	20.8	11.5	0.0	15.6	12.7	1.7			
EEM		3.8	3.2	0.3	1.4	3.6	4.6	3.4	0.0	3.9	3.6	1.3			

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con 151 - 200 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL									
			PESO	TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)			
1005180036	M	37	74.5	1.68	26.4	98	165	158	0	78.0	54.1	32.8			
1005190024	F	40	59.0	1.53	25.2	95	191	152	0	90.0	56.9	34.1			
1005190032	M	47	71.0	1.63	26.7	96	151	198	0	60.7	47.6	32.7			
1005200021	M	45	95.0	1.72	32.1	98	180	181	0	79.4	62.6	38.0			
1005200029	M	33	68.5	1.58	27.4	98	128	180	0	56.3	53.9	17.8			
1005210012	M	37	92.5	1.87	26.5	91	223	162	0	113.1	70.9	39.0			
1005210021	M	27	89.0	1.80	27.5	96	159	166	0	71.2	66.3	21.5			
SUMIA		266.0	549.5	11.8	191.8	672.0	1197.0	1197.0	0.0	548.7	412.3	215.9			
PROMEDIO		38	78.5	1.69	27.4	96.0	171.0	171.0	0.0	78.4	58.9	30.8			
SD		6.9	13.7	0.1	2.2	2.5	30.6	16.1	0.0	19.1	8.1	8.1			
EEM		2.6	3.7	0.3	1.5	1.6	5.5	4.0	0.0	4.4	2.8	2.8			

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con 201 - 250 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL									
			PESO	TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)			
1005180017	M	52	92.5	1.73	30.9	105	166	202	0	80.8	49.6	35.5			
1005190027	M	58	78.0	1.72	26.4	94	176	218	0	79.6	69.0	27.5			
1005190033	M	39	64.0	1.54	27.0	96	177	218	0	66.9	66.2	43.9			
1005200019	M	28	71.0	1.63	26.7	83	203	249	0	98.9	90.5	13.6			
1005200023	M	52	79.6	1.68	28.2	103	179	241	0	57.1	68.2	33.4			
1005210020	M	38	74.0	1.65	27.2	84	236	247	0	11.9	92.5	32.6			
SUMIA		267.0	459.1	10.0	166.4	565.0	1137.0	1375.0	0.0	395.2	436.0	186.5			
PROMEDIO		45	76.5	1.66	27.7	94.2	189.5	229.2	0.0	65.9	72.7	31.1			
SD		11.3	9.6	0.1	1.7	9.2	25.9	19.2	0.0	30.0	16.2	10.1			
EEM		3.4	3.1	0.3	1.3	3.0	5.1	4.4	0.0	5.5	4.0	3.2			

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con 251 - 300 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	PESO	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL						
				TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)	
1005180057	F	58	76.0	1.74	25.1	115	191	258	0	77.9	79.8	33.2	
1005190019	M	42	70.0	1.66	25.4	108	145	278	0	50.5	74.1	20.4	
1005200017	M	34	75.0	1.69	26.3	98	198	300	0	113.3	61	23.8	
1005210015	M	63	77.0	1.61	29.7	97	235	293	0	99.4	105.3	30.3	
1006120019	M	50	92.5	1.61	35.7	111	202	299	0	76.0	98.2	27.9	
SUMA		247.0	390.5	8.3	142.2	529.0	971.0	1428.0	0.0	417.1	418.4	135.6	
PROMEDIO		49	78.1	1.66	28.4	105.8	194.2	285.6	0	83.4	83.7	27.1	
SD		11.7	8.5	0.1	4.5	8.0	32.3	17.8	0.0	24.1	18.0	5.1	
BEM		3.4	2.9	0.2	2.1	2.8	5.7	4.2	0.0	4.9	4.2	2.3	

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con 301 - 400 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	PESO	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL						
				TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)	
1005180024	M	28	102.0	1.73	34.1	112	138	326	0	49.4	76.9	11.7	
1005200025	M	51	75.5	1.70	26.1	102	244	303	0	110.3	104.4	29.3	
1005200031	M	30	78.0	1.70	27.0	100	100	330	0	23.3	55.0	21.7	
1005210022	M	41	83.0	1.80	25.6	95	213	384	0	78.2	115.7	19.2	
1005240116	M	50	99.0	1.66	35.9	110	202	375	0	76.0	105.0	21.0	
1005250049	M	55	77.0	1.74	25.4	114	251	374	0	104.2	126.8	20.1	
SUMA		255.0	514.5	10.3	174.2	633.0	1148.0	2092.0	0.0	441.4	583.8	123.0	
PROMEDIO		43	85.8	1.72	29.0	105.5	191.3	348.7	0.0	73.6	97.3	20.5	
SD		11.4	11.7	0.0	4.7	7.6	60.2	33.3	0.0	32.9	26.5	5.6	
BEM		3.4	3.4	0.2	2.2	2.8	7.8	5.8	0.0	5.7	5.2	2.4	

Datos de Perfil de lípidos y electroforesis de pacientes con >401 mg/dl de Triglicéridos

PACIENTE	SEXO	EDAD	PESO	OBESIDAD			ELECTROFORESIS DE LIPOPROTEINAS EN mg/dL						
				TALLA	IMC	GLU	COL	TRIG	QUIL	β (LDL)	PRE-β (VLDL)	α - (HDL)	
1005180020	M	30	85.5	1.67	30.7	100	231	500	0	42.3	168.2	20.6	
1005180025	M	60	93.0	1.66	33.7	110	206	424	0	71.5	115.4	19.2	
1005180054	F	46	83.5	1.69	29.2	99	185	475	0	51.2	105.3	28.5	
1005190036	M	41	81.5	1.68	28.9	112	139	474	0	41.4	91.2	6.4	
1005210011	M	33	79.2	1.75	25.9	104	211	408	0	76.2	111.8	23.0	
SUMA		210.0	422.7	8.5	148.4	525.0	972.0	2281.0	0.0	282.6	591.9	97.7	
PROMEDIO		42	84.5	1.69	29.7	105.0	194.4	456.2	0.0	56.5	118.4	19.5	
SD		11.9	5.3	0.0	2.9	5.8	35.0	38.6	0.0	16.4	29.3	8.2	
BEM		3.4	2.3	0.2	1.7	2.4	5.9	6.2	0.0	4.0	5.4	2.9	

4. Insertos



Lipoproteins Electrophoresis Procedure

Ref. SRE152K-SRE146K-SRE175K-SRE187K

Sommario/Contents

Italiano	1
English	7
Deutsch	13
Español	19
Português	25
Ελληνικά	31

Uso Previsto

El kit Interlab para la electroforesis de las lipoproteínas permite realizar el análisis cualitativo y semi cuantitativo de las fracciones de lipoproteínas Pre-Alfa, Alfa, Pre-Beta, Beta y Quilomicrones con acetato de celulosa de Mylar®. El kit se utiliza con los instrumentos Microtech 672PC, Microtech 648ISQ, Microtech 648PC y Genio.

Resumen

Las lipoproteínas son complejos solubles compuestos de una parte lipídica ligada a una parte proteica. Están formadas por un núcleo de moléculas hidrofóbicas circundado por un revestimiento hidrofílico. El núcleo hidrofóbico está compuesto de triglicéridos y ésteres del colesterol.

El revestimiento hidrofílico está compuesto de fosfolípidos, y de una mezcla de un tipo de proteínas específicas, llamadas apolipoproteínas, con colesterol no esterificado. El proceso bioquímico que produce la síntesis de la lipoproteína plasmática aún se desconoce. Las lipoproteínas transportan lípidos del plasma a las células de los tejidos periféricos, y transportan los lípidos que no han sido utilizados en las vías metabólicas al hígado. Las lipoproteínas pueden agruparse en cuatro clases principales, de acuerdo a su:

- densidad (determinada mediante ultra centrifugación)
- movilidad electroforética (determinada mediante electroforesis de zona)
- dimensión (determinada mediante filtración molecular sobre acrilamida)

La electroforesis de zona sobre tiras de acetato de celulosa con pH alcalino permite separar las lipoproteínas en cuatro bandas principales llamadas Alfa (HDL), Pre-Beta (VLDL), Beta (LDL), y Quilomicrones; además, puede estar presente en una quinta fracción conocida como Pre-Alfa.

- La lipoproteína Pre-Alfa, también conocida como lipoproteína, une los ácidos grasos no esterificados.
- Las lipoproteínas Alfa o HDL (High Density Lipoproteins, es decir Lipoproteínas de Alta Densidad) transportan principalmente fosfolípidos y colesterol de los depósitos intracelulares al hígado.
- Las Lipoproteínas Pre Beta o VLDL (Very Low Density Lipoproteins, es decir Lipoproteínas de Muy Baja Densidad) transportan principalmente triglicéridos endógenos a los tejidos periféricos. Las VLDL también transportan el colesterol libre.
- Las lipoproteínas Beta o LDL (Low Density Lipoproteins, es decir Lipoproteínas de Baja Densidad) transportan principalmente colesterol (libre y en su forma esterificada).
- Los quilomicrones transportan los lípidos del intestino a tejidos objetivos, uniendo los triglicéridos exógenos que se introducen en la alimentación.

La heterogeneidad en el lugar de la síntesis favorece la variabilidad de la dimensión y de la composición de las lipoproteínas (ver tabla 1).

Ánodo (+)	MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA					Cátodo (-)
	Pre-Alfa o Lipalbúmina	Alfa	Pre-Beta	Beta	Quilomicrones (Punto de Aplicación)	
Densidad		HDL	VLDL	LDL		Densidad
Colesterol		20%	10-40%	45%	2-5%	Colesterol
Triglicéridos		1-5%	40-60%	10-12%	80-90%	Triglicéridos
Fosfolípidos		20%	22%	22%	2-5%	Fosfolípidos
Proteínas		45-50%	10-5%	10-5%	1-2%	Proteínas

Tabla 1: Clasificación de las fracciones lipoproteicas

Inicio de la prueba

Las lipoproteínas se separan en las tiras de acetato de celulosa según sus cargas eléctricas. La movilidad electroforética de las fracciones lipoproteicas viene determinada por su carga neta de las cargas del grupo terminal y lateral de apoproteínas, y por las cargas eléctricas de los fosfolípidos.

Las bandas lipoproteicas se revelan mediante la coloración con Sudan Black en una solución alcalina.

Advertencia: Estos kits son exclusivamente para usar en diagnóstico in vitro.

Recogida y conservación de la muestra

Las muestras de plasma deben ser recogidas según lo especificado en los procedimientos de laboratorio y de acuerdo a las directrices de buenas prácticas de Laboratorio (Good Laboratory Practice Guidelines). Es preferible utilizar la muestra del plasma fresco recogido con EDTA (ácido etileno-diamino tetracético, ya sea con sodio o con sal de potasio). La EDTA, de hecho, desempeña una acción protectora en las fracciones lipoproteicas inhibiendo la actividad de la lipasa. Se pueden utilizar también las muestras de suero con una concentración final de EDTA de 1g/L.

Las muestras deben conservarse a +4°C antes de su uso. La muestra se puede conservar durante 2 días a 2±8°C, la conservación prolongada causa la disminución de la fracción Pre-beta. No utilice sangre recogida en heparina. No utilice las muestras congeladas.

Reactivos

Todos los reactivos están listos para usar, excepto la solución colorante.

Por favor, consulte el Manual del Usuario y/ o la Hoja de Configuración para la correcta disposición de la solución en las parrillas de reactivos del instrumento.

Conservación y Estabilidad: Conserve todos los reactivos a temperatura ambiente (entre 15° ± 30°C).

Todos los reactivos son estables hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta, incluso después de la apertura de las botellas. No use reactivos después de la fecha de expiración.

- **Tiras**
Acetato de Celulosa estratificado sobre Mylar®
Señales de Deterioro: No utilizar si la superficie de la tira está dañada.
- **Tampón de Mojado y Procedimiento**
Contiene: 1.02% de Ácido Hipúrico
Señales de Deterioro: Desecha el tampón si cambia su apariencia, por ejemplo, si aparecen manchas negras o moho gelatinoso.
- **Solución Colorante**
Contiene: Sudan Black B (Negro de Sudán B) en Metanol 80%(v/v)
Advertancia: Tóxico en caso de inhalación, por contacto con la piel, o si se ingiere.
Fácilmente inflamable
Señales de Deterioro: Desecha la solución de colorante si presenta precipitado.
- **Solución Decolorante**
Contiene: Metanol al 60% (v/v)
Advertancia: Tóxico en caso de inhalación, por contacto con la piel, o si se ingiere
Fácilmente inflamable
- **Solución Alcalina**
Contiene: 5% de Hidróxido de Sodio
Advertancia: Corrosivo

Consideraciones sobre desechos y riesgos asociados

Para un desecho correcto y seguro, cumpla con la normativa legal local.

Sin embargo, también puede encontrar información sobre el desecho seguro en la Página de Seguridad de Reactivos que el proveedor de Servicios Técnicos pone a su disposición.

En cuanto a las precauciones a ser tomadas en cuenta ante cualquier riesgo especial o inusual relacionado al uso o desecho del producto, incluyendo medidas especiales de protección, consulte la Página de Seguridad de Reactivos que el proveedor de Servicios Técnicos pone a su disposición.

Materiales Suministrados

Número de Producto del Kit: SRE152K
Para el Instrumento M672 PC

Ref.	Descripción	Ct.
SRE125E	Tiras - 24	1
SCE113E	Papel secante para Bandeja de Muestras - 24	1
SCE112V	Papel Secante para Secado de Tira - 8	1
SCE111V	Papel Secante para la Cámara de Migración - 8	1
SRE111L	Tampón de mojado y Procedimiento - 500 mL	2
SRE127F	Solución de Colorante - 1000 mL	1
SRE130F	Solución de Decolorante - 1000 mL	2
SRE139L	Solución Alcalina - 500 mL	1

Código del Kit: SRE146K
Para el Instrumento M648 ISO

Ref.	Descripción	Ct.
SRE127E	Tiras - 24	1
SCE127E	Papel secante para Bandeja de Muestras - 24	1
SCE148V	Papel Secante para Secado de Tira - 8	1
SCE119V	Papel Secante para Secado de Tira - 8	1
SCE118V	Papel Secante para la Cámara de Migración - 8	1
SRE117L	Tampón de mojado y Procedimiento - 500 mL	2
SRE127F	Solución Colorante - 1000 mL	1
SRE127L	Solución Colorante - 500 mL	1
SRE130AE	Solución Decolorante - 800 mL	1
SRE139AE	Solución Alcalina - 800 mL	1

Número de Producto del Kit: SRE175K
Para el Instrumento Genio

Ref.	Descripción	Ct.
SRE154E	Tiras - 24	1
SCE127E	Papel secante para Bandeja de Muestras - 24	1
SCE148V	Papel Secante para Secado de Tira - 8	1
SCE1180	Papel Secante para la Cámara de Migración - 12	1
SRE111H	Tampón de mojado y Procedimiento - 250 mL	2
SRE127L	Solución de Colorante - 500 mL	2
SRE130H	Solución de Decolorante - 250 mL	1
SRE139H	Solución Alcalina - 250 mL	2

Código del Kit: SRE187K
Para el Instrumento Genio

Ref.	Descripción	Ct.
SRE154E	Tiras - 24	1
SCE127E	Papel secante para Bandeja de Muestras - 24	1
SCE148V	Papel Secante para Secado de Tira - 8	1
SCE1180	Papel Secante para la Cámara de Migración - 12	1
SRE111H	Tampón de mojado y Procedimiento - 250 mL	2
SRE127L	Solución Colorante - 500 mL	2
SRE130H	Solución Decolorante - 250 mL	1
SRE139H	Solución Alcalina - 250 mL	2

Materiales necesarios no incluidos en el Kit

- Pipetas automáticas. Preferiblemente dispositivos de pipeta regulables para 100 µL, 1 mL y 2 mL.
- Agua Destilada (AD)

Procedimiento de la Prueba

1. Cámara de Migración y Pajillas de Reactivos

- Inserte los Secantes en las ranuras de la Cámara de Migración. Mientras vierta el tampón, asegúrese de que los niveles en los dos compartimentos sean iguales y justo por debajo de la línea roja horizontal de la Cámara de Migración.
- **Para Instrumentos Microtech:**
 - Presione los secantes usando "Electrodos de Papel para Presionar por Migración" (Press for Migration Paper Electrodes), con la etiqueta hacia el lado derecho.
 - Seque la tapa de la Cámara de Migración con una tela que no tenga ninguna pelusa.
 - Coloque la tapa de la Cámara de Migración en el imán dentro del instrumento.
- **Para Instrumentos Genio:**
 - Coloque la Tapa de la Cámara de Migración en la cámara de migración.
 - Coloque la Cámara de Migración en el instrumento, asegurándose de que esté completamente conectada.
 - **NOTA:** Revise el nivel de los reactivos antes de iniciar el análisis.
 - Todos los reactivos deben estar en sus niveles óptimos antes de usar el instrumento.
 - Complete la preparación de la Pajilla de Reactivos como se indica en la Página de Configuración que se encuentra dentro del kit de pruebas o en el Manual del Usuario.

2. Tiras

- Revise el Sujetador de Tiras para asegurarse de que esté limpio, sobre todo cerca de los broches. Elimine cualquier desperdicio.
- Coloque la Tira en el sujetador de Tiras como muestra el Manual del Usuario.
- No toque el acetato con sus dedos.
- Asegúrese de que la Tira esté plana y que se adhiera al sujetador de Tiras.

3. Muestras

- Coloque 30 µL de plasma en cada fuente de la Bandeja de Muestras. Cuando coloque las muestras en las pipetas, **EVITE** introducir burbujas. Advertencia: Las burbujas y la espuma pueden interferir con los resultados.

4. Bandeja de Muestras

- Coloque el Secante en la posición correcta en la bandeja de muestras
- Ponga la Bandeja de Muestras en el instrumento.
- Eche agua destilada en el canal de la Bandeja de Muestras como se explica en el Manual del Usuario.
- Asegúrese de que la superficie del líquido esté llena hasta al borde.
- Revise que el nivel de líquido no esté ni cóncavo ni convexo.

5. Condiciones de Operación

Verifique en el teclado del instrumento que las Condiciones de Operación sean las correctas. Estas instrucciones son muy específicas, por tanto asegúrese de consultar la información sobre las Condiciones de Operación que se encuentra en la Página de Configuración en el kit. La Página de Configuración está específicamente diseñada para el número de kit que se usa para este análisis. Consulte el Manual del Usuario para más información sobre cómo configurar las Condiciones de Operación.

6. Comienza la prueba.

Consulte el Manual del Usuario para más información sobre cómo usar el instrumento.

Notas adicionales:

- El Papel Secante para la Bandeja de Muestra debe cambiarse cada vez que se realice un nuevo grupo de muestras.
- Deseche el tampón y los papeles secantes contenidos en la Cámara de Migración Microtech después de 6 electroforesis (6 Tiras).
- Elimine el tampón y los papeles secantes contenidos en la Cámara de Migración Genio después de 4 electroforesis (4 Tiras).
- Los reactivos y los papeles de transferencia en la Pajilla de Reactivos deben ser eliminados después de 12 análisis (12 Tiras).
- Advertencia: Cubra cada tanque de la Pajilla de Reactivos cuando no esté usando los instrumentos.

Interpretación de los resultados de las pruebas

La electroforesis de las lipoproteínas debe considerarse solamente como un método cualitativo para mediciones de lípidos cuantitativas.

El tipo de lipoproteínas de una muestra normal (plasma o suero) presenta fracciones con coloraciones en negro o marrón cuando se utiliza el colorante Sudan Black B (Negro de Sudán B) (vea la figura 1)

Por lo general, se deben identificar las siguientes características al estudiar el patrón electroforético de una lipoproteína de una muestra normal:

- o Cada banda de lipoproteína debe tener una forma rectangular, sin importar el grado de enfoque.
- o La banda de lipoproteínas Beta puede mostrar el margen catódico con un perfil curvo o irregular.
- o Las bandas deben tener la misma distancia entre ellas.
- o Las bandas deben tener la misma amplitud, en especial las fracciones Alfa y Beta.
- o La intensidad de la coloración, en orden ascendente, debe ser: pre-Beta, Alfa, y Beta.

En algunas ocasiones puede aparecer una fracción, denominada Pre-Alfa o Liposalbúmina, bandas con poca coloración que migran desde el anódico a la fracción alfa. Esta banda, cuya coloración proviene de ligar el colorante con ácidos grasos y la lecitina ligados a la albúmina, viene por lo general en la densitometría de la fracción Alfa.

Si la banda Pre-Alfa está ausente, la fracción Alfa es la más anódica, y aparece como una banda pequeña diferente que se soluciona casi también como las otras fracciones.

La banda Pre-Beta puede tener un aspecto difuso y presentar una gran movilidad. El envejecimiento de la muestra produce una degradación rápida de la fracción Pre-Beta que desaparece del patrón. La división de la banda Pre-Beta se puede observar en algunas muestras.

La banda Beta es por lo general bastante amplia y de una coloración intensa. Por lo general, la zona entre las bandas Pre-Beta y Beta genera una coloración de más intensidad que el fondo de la banda.

La presencia de una línea puntiaguda y negra en el punto de aplicación indica la presencia de quilomicrones en la muestra.

Información Adicional:

- El nivel sanguíneo de los lípidos, en particular el colesterol, está más relacionado con la incidencia de arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y cardiopatías isquémicas.
- La hiperlipoproteinemia es sintomática de un grupo de condiciones patológicas cuyo tratamiento terapéutico puede variar según los diferentes perfiles grasos.
- El **IDL** es un estado intermedio entre la VLDL y la LDL (indica que el VLDL no se ha transformado por completo en LDL). Esta banda se conoce también como "broad-band" (banda ancha) o "broad-beta" (beta ancha) y puede aparecer en la zona entre los Beta y Pre-Beta.

Fredrickson y Lees plantearon en 1965 una clasificación para la hiperlipoproteinemia. (ver Fig.2)

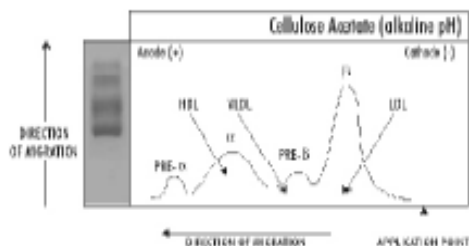


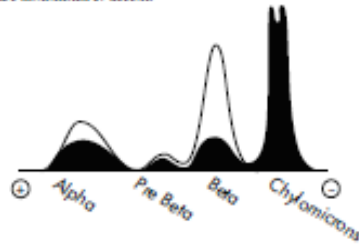
Fig.1 Modelos y gráficos de Lipoproteínas normales

Referencia de Valores	
Fración	Intervalo de los resultados de la Muestra%
Alfa	28-40
Pre-Beta	12-21
Beta	45-56
Quilomicrones	0-2

N.B. Estos valores se presentan como directrices indicativas. Cada laboratorio debe establecer su propia referencia de valores.

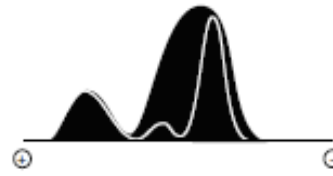
TYPE I: Hyperchylomicronemia

Chylomicrons appear at the application points as a dark, uniform line. Beta, pre-Beta and Alpha lipoprotein bands are diminished or absent.



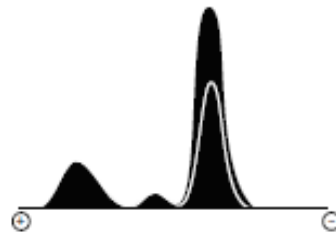
TYPE III: "Broad Beta"-Mixed Hyperlipidemia

Chylomicrons are absent. Beta lipoproteins are decreased. Dramatic increase of pre-Beta lipoproteins results in a single, large band that spans across Beta and pre-Beta. Alpha lipoproteins may be slightly elevated.



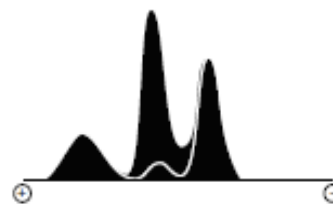
TYPE IIa: Hyperbetalipoproteinemia

Chylomicrons are absent. The band of Beta lipoproteins is considerably increased. Pre-Beta and Alpha lipoproteins bands are normal.



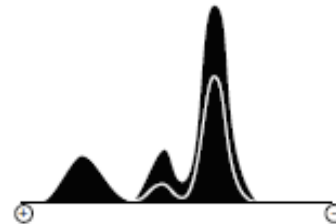
TYPE IV: Endogenous Hypertriglyceridemia induced by Carbohydrates

Chylomicrons may be appear as a faint band at the application points. Pre-Beta lipoprotein band shows mild to severe increase. The bands of Beta and Alpha lipoproteins may be decreased.



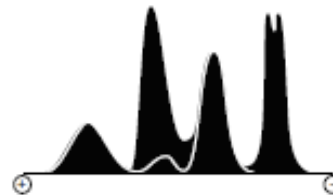
TYPE IIb: Mixed Hyperlipidemia

Chylomicrons are absent. Beta and pre-Beta lipoproteins are increased. The band of Alpha lipoproteins is normal.



TYPE V: Endogenous and Exogenous Hyperglyceridemia

Chylomicrons produce well defined band(s). Beta lipoproteins are normal or slightly increased. Pre-Beta lipoproteins are increased, and Alpha lipoproteins may appear normal or slightly increased.



NOTA: La banda "broad-beta" se extiende a través de las bandas beta y Pre-Beta

Fig. Los fenotipos lipídicos en las hiperlipidemias (de acuerdo con la clasificación de Fredrickson y Lees).

Control de Calidad

Se recomienda incluir una solución de control para las lipoproteínas junto a las muestras de pacientes en cada análisis, en conformidad con las directrices o requisitos de las regulaciones estatales, locales y/o federales u organizaciones acreditadas. El laboratorio debe establecer los parámetros de aceptación para cada lote de material de control. Si los controles no están incluidos dentro de estos parámetros, los resultados de las pruebas estarán bajo sospecha, y por tanto, el análisis debe repetirse.

Control de Calidad Interno

Antes de la entrega, todos los lotes de cada uno de los Kits son probados por Interlab, a fin de verificar que los Kits cumplen los requisitos establecidos para los procedimientos de control de calidad de Interlab. Los resultados de las pruebas de control de calidad, que aparecen en el Certificate of Analysis (Certificado de Análisis), se incluyen en la hoja de configuración para ofrecer parámetros de trabajo que aseguren el funcionamiento declarado en el Certificate of Analysis.

Servicio Técnico

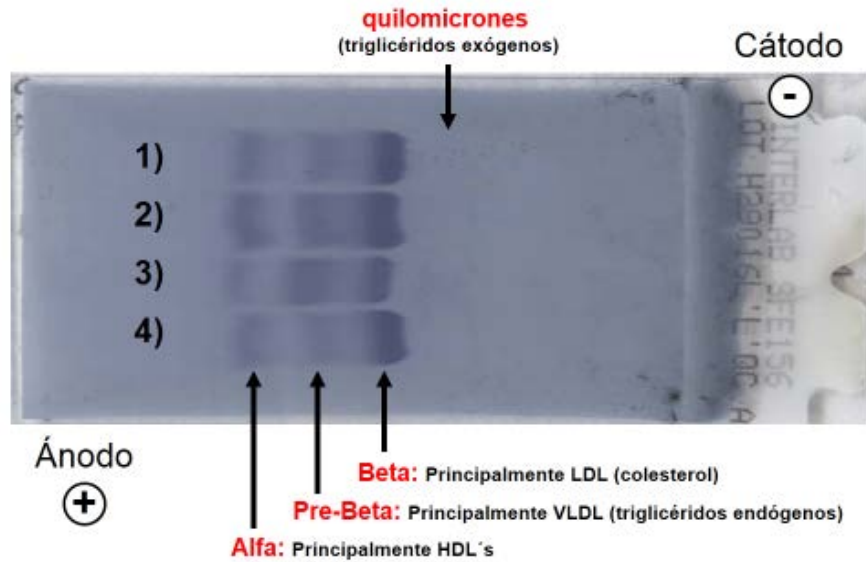
Llame al Servicio Técnico del proveedor en caso de que se produzcan cambios en el funcionamiento analítico de los equipos, siempre y cuando, las instrucciones para la preparación y almacenamiento de los productos y el procedimiento se hayan cumplido en su totalidad.

Interferencia y Limitaciones

- o La congelación (a -20°C) y la conservación prolongada de las muestras, alteran la movilidad electroforética de las lipoproteínas.

5. Construcción del lipoproteinograma

Integración densitométrica de la electroforesis



Los resultados de los corrimientos electroforéticos arrojados por el equipo *Genio* de Interlab™, se obtienen utilizando el programa de software *Efrolab*™. Este software toma una foto de la membrana empleada en la electroforesis de lipoproteínas dependiendo de la escala de grises vs el número de veces que se repite un dato (la moda); esto da como resultado datos numéricos de la transformación densitométrica de cada una de las fracciones presentes. Los datos numéricos al ponerlos en una hoja de Excel da como resultado el lipoproteinograma, obteniéndose el comportamiento de la media de cada una de las fracciones.

