



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

IMPORTANCIA DE LAS LIPOPROTEÍNAS HUMANAS
EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y SUS PRINCIPALES
AVANCES PARA EVALUAR DIVERSAS
CARDIOPATÍAS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A:
ROSALBA CORTÉS OCAMPO

ASESORA: QFB. MARÍA DE LOURDES GALVÁN RUIZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Importancia de las lipoproteínas humanas en el diagnóstico clínico y sus principales avances para evaluar diversas cardiopatías.

Que presenta la pasante Rosalba Cortés Ocampo

Con número de cuenta: 300242322 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 18 de marzo de 2011

PRESIDENTE MC. Ricardo V. Santiago Díaz
 VOCAL MC. Idalia del Carmen Avila Miyazawa
 SECRETARIO QFB. Ma. de Lourdes Galván Ruiz
 1er SUPLENTE MC. Francisco López Mejía
 2º SUPLENTE MC. Gloria Leticia Arellano Martínez

[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]

AGRADECIMIENTOS

- Dios, mi Señor, mi Guía, mi Salvador, mi Esperanza tu sabes que estás en primer lugar sobre todas las cosas, muchas gracias por lo esencial que has sido al alcanzar esta meta porque todo lo que tengo, todo lo que soy, todo lo que hago es para ti, gracias por estar conmigo en cada alegría y por darme valor en los momentos de dificultad. Sé que este es sólo el inicio de muchos logros que alcanzaré de tu mano.
- Mamita: gracias por darme la oportunidad de existir, por enseñarme que todo se aprende y que todo esfuerzo es al final recompensa, por tu confianza, ánimo y por esos “lunchs” que saciaron mi hambre en toda la carrera, eres mi mejor y más divertida amiga.
- Papá: gracias por darme la estabilidad emocional, económica, espiritual y sentimental para poder llegar hasta este logro, por instruirme desde niña en mi camino, por todo tu sacrificio y ejemplo de superación y porque finalmente tu esfuerzo, se convertirá en tu triunfo y el mío.
- Mariana, Luis y Shaddai: gracias por darme la posibilidad de poder usar la palabra FAMILIA con orgullo, siempre seremos los amigos de toda la vida.
- Eduin: toda mi vida de universidad (y un poco antes) está llena de lo que tú me has regalado, muchas gracias por ser el mejor novio que alguien pudiera desear, has sido mi más valioso amigo, mi mejor compañero de equipo, el regalo más lindo de Dios. Eres mi “coach” favorito, gracias por TODO. Te amo.
- Comunidad, Julián, Deya, Oli, “Angie” Meléndez y Lereyzi Matus: gracias por su amistad e invaluable ayuda y porque en esta etapa de mi vida ustedes me ayudaron a construir a ésta Rosalba Cortés.
- Asesora Lourdes Galván: Gracias por aceptar mi repentina propuesta aquel día... su conocimiento ha sido mi mejor guía en este tiempo, he aprendido mucho de su profesionalismo y entrega.
- A mi jurado: Muchas gracias por su incansable esfuerzo para lograr una formación integral, en quienes tenemos la bendición de haber recibido su guía en el desarrollo de nuestro talento humano. ¡Ustedes son mi universidad!
- A mis compañeras de Becton Dickinson de México: Ustedes son un gran ejemplo de profesionalismo, entrega y pasión; su amistad ha sido mi mejor entrenamiento. Le doy muchas gracias a Dios por sus vidas.
- A mí querida Universidad: ¡Como no te voy a querer! Si me has dado la dicha de compartir contigo la herencia que te han dejado los años. Tu eres tan mía y yo soy tan tuya. Muchas Gracias.

Para mis padres:

Dos de las personas con “mejor corazón” que conozco, los amo.

“A todo el que se le ha dado mucho
se le exigirá mucho, y al que se le ha confiado mucho
se le pedirá aun más”

Lucas 12:48

“El conocimiento nos hace responsables”.

Ernesto Guevara de la Serna

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS _____	7
ÍNDICE DE TABLAS _____	8
OBJETIVOS	
Objetivo general _____	9
Objetivos particulares _____	9
MARCO TEÓRICO.- LOS LÍPIDOS Y EL CORAZÓN	
La naturaleza y función de los lípidos en la dieta _____	11
Transporte de lípidos en las lipoproteínas _____	12
Las enfermedades del corazón _____	13
CAPÍTULO 1.-LIPOPROTEÍNAS	
1.1 Definición y estructura _____	16
1.2 Propiedades y clasificación _____	18
1.3 Función e importancia biológica de las lipoproteínas _____	19
1.4 Biosíntesis de lipoproteínas _____	20
1.4.1 Factores reguladores en la síntesis de lipoproteínas _____	22
1.5 Catabolismo de lipoproteínas _____	22
1.6 Apolipoproteínas y su función metabólica _____	25
1.6.1 Apolipoproteínas como marcadores de riesgo cardiovascular _____	27
1.6.2 Evaluación del riesgo de enfermedades cardiovasculares con la medición de las apolipoproteínas _____	29
CAPÍTULO 2.-LABORATORIO Y DIAGNÓSTICO	
2.1 Consideraciones básicas de la muestra sanguínea _____	31
2.2 Métodos de cuantificación tradicionales _____	32
2.2.1 Ecuación de Friedewall _____	33
2.2.2 Precipitación diferencial de lipoproteínas y prueba espectrofotométrica semienzimática _____	34
2.2.3 Electroforesis en gel de gradiente (GGE) _____	35
2.2.4 Ultracentrifugación _____	38
2.2.5 Métodos enzimáticos _____	39
2.2.6 Métodos inmunoquímicos _____	41
2.3 Valores de referencia de lipoproteínas _____	43

CAPÍTULO 3.- SISTEMA CARDIOVASCULAR

3.1	Generalidades_____	45
3.1.1	El corazón como parte integrante del sistema cardiovascular_____	46
3.1.2	El sistema eléctrico_____	47
3.1.3	Presión arterial_____	47
3.2	Los lípidos en la función vascular_____	48
3.3	Colesterol y enfermedades cardiovasculares_____	48
3.4	Índice aterogénico_____	50

CAPÍTULO 4.- AVANCES EN LA DETERMINACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS

	Principales avances en la determinación de lipoproteínas_____	53
1.	Colesterol no HDL_____	54
2.	Apo B_____	54
3.	Prueba VAP® (Vertical Auto Profile)_____	55
4.	Espectroscopia por resonancia magnética nuclear_____	57
5.	Análisis de movilidad iónica_____	59
6.	Espectroscopia diferencial de masas_____	61
7.	Uso de nanocristales_____	62

	DISCUSIÓN_____	65
--	----------------	----

	CONCLUSIÓN_____	69
--	-----------------	----

	ABREVIATURAS_____	70
--	-------------------	----

	GLOSARIO DE TERMINOLOGÍAS_____	72
--	--------------------------------	----

	REFERENCIAS_____	76
--	------------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1	Esquema de una lipoproteína. Se representan sus principales componentes.....	17
FIGURA 1.2	Composición porcentual aproximada de las lipoproteínas plasmáticas.	18
FIGURA 1.3	Movilidad electroforética de las Lipoproteínas plasmáticas.	19
FIGURA 1.4	Esquema general del metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas.....	22
FIGURA 1.5	Esquema general del transporte reverso del colesterol	24
FIGURA 1.6	Distribución porcentual de las Apolipoproteínas (Apo) entre las clases de lipoproteínas	27
FIGURA 2.1	Métodos tradicionales de cuantificación de las lipoproteínas.	32
FIGURA 2.2	Electroforesis en gel de poliacrilamida.	37
FIGURA 2.3	Separación de lipoproteínas en gel de agarosa.....	38
FIGURA 2.4	Ultracentrifugación por gradiente de densidad.....	39
FIGURA 3.1	Arterias, venas y válvulas cardíacas.	46
FIGURA 3.2	Índice aterogénico.....	51
FIGURA 4.1	Determinaciones innovadoras disponibles para la cuantificación de lipoproteínas.	53
FIGURA 4.2	Análisis del tipo de subclases de lipoproteínas analizadas en RMN.....	58
FIGURA 4.3	Esquema general del funcionamiento del análisis de movilidad iónica.....	60
FIGURA 4.4	a) Equipo convencional para el análisis de movilidad iónica.....	60
	b) Gráfico convencional de resultados del análisis de movilidad iónica	
FIGURA 4.5	Uso de nanocristales para la construcción de nanosomas, útiles en la cuantificación del metabolismo de Lipoproteínas.	62

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1	Composición porcentual de las lipoproteínas plasmáticas del hombre.....	17
TABLA 1.2	Propiedades de las lipoproteínas humanas.....	18
TABLA 1.3	Propiedades de las principales apolipoproteínas.....	26
TABLA 2.1	Relación de reactivos precipitantes y lipoproteínas que precipitan.....	35
TABLA 2.2	Resumen de métodos inmunoquímicos para la valoración de lipoproteínas.....	42
TABLA 2.3	Valores de referencia de Lipoproteínas.....	43
TABLA 4.1	Correlación entre los valores de Apo B y LDL	54
TABLA 4.2	Análisis que se realizan en la prueba VAP®	57

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- ❖ Realizar una investigación profunda sobre las lipoproteínas humanas, definir su estructura, composición e importancia a nivel bioquímico y principalmente diagnóstico, así como documentar los principales avances para su cuantificación y su correlación con diversas cardiopatías, además de señalar como éstas pueden ser monitoreadas para evaluar riesgos a nivel cardiovascular con información innovadora que nos brinde un panorama actual para su utilidad a nivel clínico y científico.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Definir estructura, composición, clasificación e importancia biológica de las lipoproteínas plasmáticas.
- Analizar los métodos que existen para la separación y cuantificación de las lipoproteínas a nivel de laboratorio clínico y con fines de investigación.
- Realizar un análisis prospectivo de los principales avances que ha habido en cuanto a métodos de cuantificación de las diferentes lipoproteínas.
- Documentar la correlación existente entre la determinación de las lipoproteínas y su impacto a nivel de diagnóstico, como herramienta en la predicción de diversos riesgos a nivel cardiovascular.

MARCO
TEÓRICO

• LOS
LÍPIDOS
Y EL
CORAZÓN

LA NATURALEZA Y FUNCIÓN DE LOS LÍPIDOS EN LA DIETA

Los lípidos son un grupo importante y heterogéneo de biomoléculas insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, caracterizados por poseer cuando menos un grupo éster y por hidrólisis dar como producto alcoholes y ácidos grasos (aunque existen algunas excepciones). Son moléculas que poseen un número elevado de átomos de carbono y de hidrógeno, pero que son deficientes en oxígeno, con la característica de ser asimilables por los organismos vivos.

Los carbohidratos, los lípidos y las proteínas, en ese orden, son los nutrimentos que proporcionan el aporte calórico necesario para un individuo en 24 horas. Sin embargo, su contribución al mismo varía de país en país, de acuerdo al nivel de vida, las costumbres y los hábitos alimenticios. En México, la recomendación sería utilizar valores de 60%, 25% y 15%, para carbohidratos, lípidos y proteínas, respectivamente, aunque en la realidad la mayor parte de la población no lo hace así.¹

Los lípidos son constituyentes importantes de los alimentos que no solo proveen una fuente concentrada de energía, sino que además les brindan textura, sabor y apetitibilidad, con lo que facilitan la digestión de los nutrimentos al aumentar las secreciones digestivas. Los principales lípidos encontrados en la dieta y en el cuerpo incluyen: tres ácidos grasos (triacilglicerol, diacilglicerol y monoacilglicerol), ésteres de glicerol, glicerofosfolípidos, esfingolípidos, glicolípidos y colesterol y sus ésteres².

En el cuerpo, los lípidos tienen distintas funciones, los triglicéridos son la principal reserva calórica del organismo y se almacenan en el tejido adiposo, el cual desempeña funciones de relleno, amortiguadoras y de sostén; actúa como aislante térmico, lubricante y morfogenético sexual y como tejido conectivo, además los triglicéridos pueden ser movilizados según los requerimientos energéticos; tanto el glicerol como los ácidos grasos que los constituyen pueden ser utilizados como fuentes de energía. El glicerol puede ingresar a la gluconeogénesis y ser convertido en glucosa, aunque un riesgo inherente a la amplia movilización de lípidos es la gran producción de acetil-CoA, con la subsecuente derivación de cuerpos cetónicos que originan cetonemia y acidosis metabólica (lo que no ocurre cuando se movilizan carbohidratos o proteínas). A pesar de ello, el organismo prefiere almacenar lípidos y degradarlos cuando sea necesario, ya que son los que contienen más calorías por gramo de peso (37.7 Kilojoules/g). Además debido a su carácter no polar rechazan el agua, por lo que se pueden acumular en un menor espacio que el que le correspondería a los carbohidratos y a las proteínas, pues ambos son polares y al almacenarse ocuparían más espacio con el agua que atraen³.

¹ Pacheco Leal, D., "Bioquímica Médica", Limusa Noriega Editores, México, 2006.

² Nordoy A: Dietary fatty acids and Coronary Heart Disease. *Lipids* 1999;34:S19-S22.

³ Casimir, C. — Akoh D. (2008): *Food lipids, Chemistry, Nutrition & Biotechnology*. 3rd Edition. Ed. CRC Press, USA

Los fosfolípidos, glicolípidos y el colesterol tienen un papel estructural en las membranas celulares; y el triacilglicerol, diacilglicerol, monoacilglicerol, esteroides y ésteres de esteroles, ácidos grasos libres e hidrocarburos tienen una función protectora en la piel. Los lípidos también tienen una importante actividad metabólica, pueden oxidarse para proveer energía y también pueden servir como precursores para sustancias biológicamente activas como las prostaglandinas, hormonas esteroides y ácidos biliares.

Algunos lípidos como las vitaminas A,D,E y K, y los ácidos grasos esenciales no son sintetizados en el cuerpo y necesitan ser administrados en la dieta, las vitaminas son necesarias para la visión (Vitamina A), regulación del metabolismo del calcio (Vitamina D), prevención autooxidación de lípidos insaturados (Vitamina E)⁴.

Cuando el colesterol está presente en los alimentos, se alude a él como colesterol alimentario, cuando comemos productos que contienen colesterol, esta sustancia se absorbe por los intestinos y pasa al torrente sanguíneo. El colesterol que se encuentra en la sangre es una combinación del colesterol que se absorbe de los alimentos y del colesterol que es sintetizado por el hígado, éste es el que se mide al efectuarse un análisis de sangre.

Su digestión en el intestino: Los principales constituyentes de los lípidos de la dieta son los triglicéridos, fosfolípidos, el colesterol y sus ésteres. En el estómago, los lípidos son liberados de las lipoproteínas por proteólisis, pero comparativamente toma lugar una pequeña lipólisis en el estómago. Los lípidos emulsificados por acción mecánica en el estómago, entran al duodeno, donde la entrada de alimento estimula la secreción de la hormona colecistocinina-pancreocimina en el pequeño intestino proximal, resultando en la contracción de la vesícula biliar y la liberación de bilis y jugo pancreático.

Los ácidos biliares atacan a las partículas de la emulsión, proporcionando una carga negativa y atrayendo a la colipasa, una proteína presente en el jugo pancreático, que sujeta a los triglicéridos. En la ausencia de la colipasa, la lipasa pancreática es inhibida por las sales biliares, a una concentración superior a la concentración miceliar inicial, pero la colipasa supera la inhibición por empaquetamiento de la lipasa pancreática. La presencia de sales biliares facilita la lipólisis al incrementar el pH óptimo de la lipasa pancreática de pH 6 a pH 7.

TRANSPORTE DE LÍPIDOS EN LAS LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos son importantes en el transporte de materiales alimenticios en forma de lipoproteínas (Lp). La mayor parte de los lípidos como el colesterol y los triglicéridos son moléculas no polares (por tanto muy hidrófobas) debido a ello, para que puedan ser transportadas en la

⁴ Casanueva, E.— Kaufer-Horwitz M. (2001): Nutriología Médica. Ed. Medica Panamericana, México.

sangre, mayoritariamente acuosa, primero deben hacerse hidrosolubles, lo cual logran al combinarse con proteínas producidas en el hígado y el intestino. Las combinaciones así formadas reciben el nombre de lipoproteínas.

Hay varios tipos de lipoproteínas, cada uno de los cuales tiene funciones diferentes, pero prácticamente todas son vehículos de transporte: proporcionan una especie de servicio de paquetería, es decir, reciben y entregan, de modo que los distintos tipos de lípidos se hallan disponibles para las células que los necesitan o se retiran de la circulación cuando no se requieren.

LAS ENFERMEDADES DEL CORAZÓN

Para llegar al descubrimiento de la relación entre las cardiopatías y las Lp, primero fue necesario conocer la anatomía del aparato circulatorio y el corazón como su parte central.

En el siglo XVII la imagen sentimental del corazón opacó cualquier intento de estudiarlo como lo que realmente es: una víscera muscular hueca cuya función es bombear sangre al resto del organismo. Todas las civilizaciones consideraron al corazón como el centro del entendimiento, el valor y el amor. Entre los chinos, el corazón era un órgano príncipe; mientras que en la era cristiana pasó a ser “el emblema universal del amor sagrado, profano y manantial de la vida”. Los griegos iniciadores del racionalismo, no pudieron liberarse de esta imagen simbólica. Aristóteles (384-322 a.C) -filósofo, hijo de médico-, le atribuyó ser el órgano de los sentimientos y las emociones⁵.

En su calidad de órgano único, que encerraba tantas virtudes y cuyo latido vital se percibía dentro del pecho, había que protegerlo con el escudo, dejando que la mano diestra manejara la espada.

La prehistoria cardiovascular tiene momentos fugaces de luminosidad científica. Érofilo y su seguidor Erasístrato (Grecia, siglo IV a.C.) hicieron intentos de separarse algunos conceptos hipocráticos. Érofilo, quien fundamentaba el conocimiento médico en la observación imparcial de los hechos, escribió un tratado que título: *Contra las opiniones generalmente admitidas*. Fue el primero en diferenciar arterias y venas, y atribuyó el pulso arterial a la contracción cardíaca. Erasístrato continuó haciendo autopsias y describió el sistema nervioso y las válvulas cardíacas.

Galeno (siglo II d.C.) médico griego que dejó escritos tanto de anatomía, fisiología, patología, así como biógrafos sobre Hipócrates, afirmaba que la sangre se formaba en el hígado, y que en el ventrículo izquierdo se formaba “el espíritu vital” por la unión de la sangre y el aire. Precisamente, éste “espíritu vital” irrigaba, por medio de las arterias, todo el cuerpo. Este concepto y el de los cuatro humores -el sanguíneo, el flemoso, el biliar amarillo y el biliar negro- influyeron en las ideas médicas hasta principios del siglo XVIII.

Hasta entonces al corazón se le considero un órgano indemne a las enfermedades. En el siglo I d.C. Plinio el Viejo escribió: “el corazón es el único órgano interno que la enfermedad no podría

• ⁵ Farquhar, J. – Spiller, G. (2001): *Enfermedades cardíacas. Toda la información que necesitas saber sobre tu corazón*. Ed. Vida y Bienestar, España.

atacar y que no prolonga el sufrimiento de la vida”. ¡Qué contraste con el hecho de que en el siglo XXI, las enfermedades del corazón son la principal causa de muertes en el mundo!

En México según el último estudio realizado por la INEGI en el 2008 (actualizado en 2010), las principales causas de mortalidad de la población adulta mayor son las enfermedades del corazón, diabetes mellitus, los tumores malignos y padecimientos cerebrovasculares que en conjunto, fueron causa del 59.4% de las defunciones, teniendo el mayor porcentaje las enfermedades del corazón con 28.26 % , esto representa alrededor de 152 480 muertes al año por estos padecimientos. Por sexo, de cada 100 hombres casi 22 mueren por enfermedades del corazón, en cuanto a las mujeres, por cada 100, 23 fallecen por esta misma causa y nueve por problemas cerebrovasculares. Entre las 10 primeras causas de egresos hospitalarios que afectan a la población de 60 años y más sobresalen las enfermedades cardiovasculares, del aparato digestivo y del sistema genito-urinario, juntas representan casi 50% (INEGI, *Estadísticas de mortalidad 2008. Consulta interactiva de datos*).

Capítulo

1

• LIPOPROTEÍNAS

1.1 DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA

El transporte de lípidos en sangre de un tejido a otro ha ido evolucionando en los mamíferos hasta la aparición de varios complejos de lípidos con proteína unidos por fuerzas no covalentes y estables en medio acuoso⁶. Estos complejos se conocen como lipoproteínas plasmáticas y son estructuras de gran importancia a nivel biológico.

Las lipoproteínas (Lp) son complejos macromoleculares de proteínas transportadoras específicas (denominadas apolipoproteínas) con diversas combinaciones de fosfolípidos, colesterol, ésteres de colesterol y triglicéridos; cuya función principal es el transporte de lípidos a los tejidos, los cuales los utilizan para producir energía, almacenarlos, sintetizar hormonas esteroideas, o para el mantenimiento de la membrana celular. Diferentes combinaciones de lípidos y proteínas dan lugar a diferentes clases de Lp⁷.

La estructura de las lipoproteínas ha sido discutida desde 1975 por Morriset et al., Smith et al. (1978), Bradley y Gotto (1978), Sparks y Sparks (1985) y Gotto et al. (1986)⁸.

Éstas consisten esencialmente en:

- Un núcleo interno de triglicérido hidrófobo y de moléculas de éster de colesterol se encuentra rodeado por una capa externa de proteínas polares (apoproteínas), además de fosfolípidos anfipáticos y moléculas de colesterol.
- Un centro lípidico neutral hidrofóbico, rodeado por una superficie adherida a una proteína y lípidos polares.
- La mayor parte del grupo es el centro, en el cual se pueden encontrar los lípidos apolares enclavados como una gota de aceite, en la periferia se sitúan los fosfolípidos, con sus grupos polares orientados hacia el exterior de la lipoproteína, lo que le proporciona estabilidad en un ambiente acuoso⁹.

Por otra parte, las proteínas específicas que constituyen estas lipoproteínas se llaman apolipoproteínas o apoproteínas. Una porción de la apoproteína se encuentra embebida en el centro apolar y el resto se expone al medio (ver fig. 1.1). La porción expuesta lleva a cabo las funciones de la proteína, es decir, identificar enzimas específicas u otras proteínas de transporte para dirigir el metabolismo de la lipoproteína a su sitio adecuado, este sistema permite llevar las moléculas de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos hasta los tejidos de manera específica. Existen 5 clases principales de lipoproteínas denominadas así de acuerdo a su

⁶ Hemming, F. - Hawthorne., "Análisis de Lípidos", Ed. Acirbia, S.A., España, 2001.

⁷ Nelson, D.L. (2005): Lehninger. Principios de Bioquímica. 4ª Edición. Ediciones Omega, España.

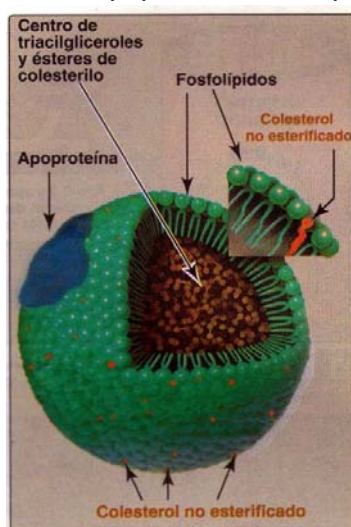
⁸ Vance, DE - Vance, JE. (1985): Biochemistry of Lipids and Membranes. The Benjamin/Cumming Publishing Company, USA.

⁹ Champe, C. - Harvey, R. (2006): *Bioquímica*. Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México.

densidad, variando ésta con la proporción de lípidos y proteínas (a mayor cantidad de lípidos menor densidad y a mayor cantidad de proteínas mayor densidad).

En relación a su densidad, de la más grande y ligera a la más pequeña y pesada, son: quilomicrones (QM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). A su vez éstas poseen subclases. La variación en su composición de proteínas, fosfolípidos, triglicéridos, etc. da lugar a las diferentes clases de Lipoproteínas¹⁰ (véase tabla 1.1.).

● FIGURA 1.1 Esquema de una lipoproteína. Se representan sus principales componentes:



Fuente: Champe, C. – Harvey, R. (2006).

■ TABLA 1.1 Composición porcentual de las lipoproteínas plasmáticas del hombre

Porcentaje observado en la fracción de la lipoproteína					
Componente	QM (%)	VLDL (%)	IDL (%)	LDL (%)	HDL (%)
Proteína	1	8	18	20	50
TAG	90	55	29	5	2-7
CL	1	7	6	9	3-5
CE	3	12	23	42	15-20
Fosfolípidos	5	18	24	24	26-32
Carbohidratos	<1	<1	<1	<1	<1
Diámetro (nm)	75 - 1 000	30 - 75	25 - 39	20 - 25	7.5 - 20
-Mr ^{**} (x 10 ⁶)	10 ³ - 10 ⁴	5 -27	4.7	3.9	0.18 - 0.36

* TAG, Triglicéridos; CL, colesterol libre, CE, colesterol esterificado.

** Mr, masa molecular relativa o aproximada.

Fuente: Zagoya-Oropeza. (2007): Bioquímica. Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida. Mc Graw - Hill, India.

¹⁰ Zagoya-Oropeza, "Bioquímica. Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida". Mc Graw - Hill, India, 2007.

1.2 PROPIEDADES Y CLASIFICACIÓN

Se ha intentado clasificar a las lipoproteínas en función de sus diferentes propiedades físicas y químicas, de modo que sea sencillo entender su función. El sistema que ha tenido más éxito es el basado en la densidad de las partículas, definido según sus características de flotación por ultracentrifugación en gradiente de densidad. En humanos existe una buena correlación entre la densidad de las lipoproteínas y sus funciones¹¹.

Con base en su composición presentan diferentes propiedades que permiten su separación y cuantificación, como son: densidad, velocidad de sedimentación (Sf) y movilidad electroforética. Las propiedades de las diferentes lipoproteínas que se encuentran en el plasma humano se resumen en la siguiente tabla 1.2.

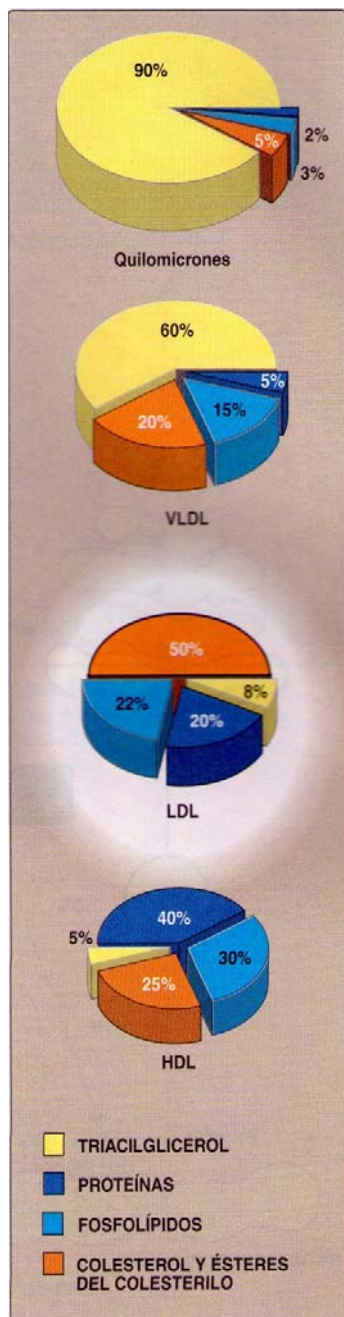


FIGURA 1.2

Composición porcentual aproximada de las lipoproteínas plasmáticas.

■ TABLA 1.2 Propiedades de las lipoproteínas humanas.

NOMBRE	PROPIEDADES			
	Densidad (kg/L)	Sf*	Mov. Electrofor.	Diámetro Å
QM	0.92-0.96	400	Origen	75-600
VLDL	0.950-1.006	20-400	Pre-β	25-75
LDL	1.006-1.063	2-20	β	17-26
HDL	1.063-1.215	0-2	α	4-10

* Sf= índice de flotación en unidades Svedberg.

Fuente: Pacheco, L. (2006): Bioquímica Médica, Limusa Noriega Editores, México, p.345.

Dependiendo de su composición cualitativa y cuantitativa, las lipoproteínas se clasifican en varios grupos que se caracterizan por el tipo y proporción de lípidos y proteínas.

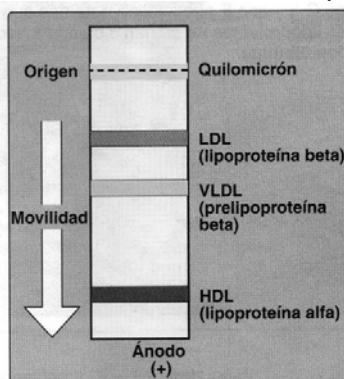
El contenido relativo de lípidos y proteínas determina la densidad, lo que facilita la separación por ultracentrifugación. Así, según su índice de flotación, las Lp se clasifican en: QM, VLDL (del inglés *very low density lipoproteins*), IDL (del inglés *intermediate density lipoproteins*), LDL (del inglés *low density lipoproteins*) y HDL (del inglés *high density lipoproteins*). Éstas difieren entre sí en tamaño, composición y función.

En la figura 1.2 se puede apreciar de manera porcentual la composición de las Lp, en la que se puede destacar la elevada concentración de colesterol y ésteres de colesterol en las HDL.

¹¹ Hemming, F. - Hawthorne., "Análisis de Lípidos", Ed. Acribia, S.A., España, 2001.

En cuanto a su clasificación por movilidad electroforética, en 1974 Tiselius logró identificar por primera vez dos lipoproteínas diferentes (las Lp alfa y las Lp beta), valiéndose de la electroforesis de frente móvil. Diez años después, el uso de la electroforesis de zona permitió identificar cuatro fracciones diferentes de complejos lipoproteicos, los cuales fueron comparados con el patrón de fracciones obtenidas por densidad¹². En la figura 1.3 se puede apreciar un patrón básico de movilidad electroforética de las Lp.

● FIGURA 1.3 Movilidad electroforética de las Lipoproteínas plasmáticas.



Fuente: Converse, C. (1992)

La densidad de las lipoproteínas es inversamente proporcional a su proporción de lípidos. Cuando las lipoproteínas se centrifugan en una solución de NaCl con una densidad de 1.063, algunas de ellas tienden a “flotar”, es decir, aparecen la superficie de la solución. Esta propiedad de flotar en un medio isopícnico se expresa cuantitativamente como unidades Svedberg de flotación (Sf).

Estas clasificaciones se realizaron con base en criterios fisicoquímicos, en los cuales se consideró que la parte lípida de las Lp es la causante de la heterogenicidad del sistema de transporte de los lípidos.

1.3 FUNCIÓN E IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LAS LIPOPROTEÍNAS

Las Lp tienen una extensa importancia biológica, ya que se encuentran involucradas en diversos procesos como: en las reacciones inmunológicas, la coagulación y la reparación de los tejidos.

Cada clase de lipoproteína tiene una función específica determinada por su lugar de síntesis, composición lípida y contenido de apolipoproteínas.

Los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) transportan por el cuerpo los triglicéridos provenientes de la comida y los endógenos (producidos por el organismo). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las de alta densidad (HDL) transportan el colesterol proveniente de la comida y el endógeno. Las HDL y las lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL)

¹² Champe, C. – Harvey, R. (2006): *Bioquímica*. Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México.

transportan los fosfolípidos ingeridos y los endógenos¹³.

En conjunto, las lipoproteínas conservan una concentración de lípidos en sangre de unos 500 mg/dL, de los cuales 120 mg son triglicéridos (TAG), 220 mg es colesterol y 160 mg son fosfolípidos.

Las LDL corresponden a un 50-70 % del colesterol total sérico y se han relacionado directamente con riesgos de enfermedades cardíacas o coronarias. A su vez, las HDL corresponden a 20-30 % del colesterol total y sus niveles están inversamente relacionados con los riesgos de enfermedades cardíacas o coronarias. Así mismo, las VLDL constituyen del 10-15 % del colesterol sérico total y son la mayor parte de los triglicéridos en el suero post-ayuno; éstas VLDL son precursoras de las LDL y se presume que algunas formas de VLDL, en especial las VLDL residuales, son aterogénicas.

A su vez, pequeñas cantidades de colesterol son transportadas también por otras dos clases de lipoproteínas: las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y los quilomicrones, los cuales aparecen en la sangre transitoriamente, luego de una comida de contenido graso y normalmente desaparecen por completo antes de 12 horas. Son ricos en triglicéridos y responsables por el aumento postprandial (luego de comer) de los triglicéridos en el plasma aunque normalmente no tienen efecto importante sobre la concentración de colesterol total.

Además del transporte de lípidos, las Lp transportan otras sustancias hidrofóbicas como las vitaminas y los fármacos en el medio acuoso de la sangre.

1.4 BIOSÍNTESIS DE LIPOPROTEÍNAS

El hígado y el intestino son los órganos que más participan en la síntesis de las Lp. En el intestino se elaboran los quilomicrones y HDL, y en el hígado las VLDL y LDL, aunque éstas últimas también tienen un origen periférico, mediante la transformación vascular de las VLDL en IDL y posteriormente, en LDL. En la figura 1.4 se puede apreciar de forma general la biosíntesis de las diferentes clases de Lp, a continuación se detallan los pasos correspondientes a cada Lp:

- *Síntesis de quilomicrones:* Los QM son los principales transportadores de triglicéridos con ácidos de cadena larga de origen exógeno, los cuales a través de procesos metabólicos se convierten en ácidos grasos de cadena media y corta, mismos que pasan directamente a la vena porta donde se unen a la albúmina para su transporte al hígado¹⁴.

A su vez, los triglicéridos ingeridos se hidrolizan principalmente en la luz del intestino delgado, dentro de las células intestinales a nivel de yeyuno, nuevos triglicéridos se sintetizan en el retículo endoplásmico liso (REL). En la fracción microsomal de los enterocitos se encuentran también las enzimas responsables de la síntesis de fosfolípidos y colesterol. La síntesis de las proteínas está asociada con los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso (RER). Los QM formados en el retículo endoplásmico se transfieren al aparato de Golgi y pasan desde las células hasta la linfa por fusión de

¹³ Champe, C. – Harvey, R. (2006): *Bioquímica*. Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México.

¹⁴ Pacheco, L. (2006): *Bioquímica Médica*, Limusa Noriega Editores, México.

estas vesículas con la membrana plasmática por exocitosis. El enlazamiento de carbohidratos al componente proteico ocurre en el REL pero en mayor proporción en aparato de Golgi. Los QM que se encuentran en la linfa llamados partículas primarias o nacientes, son más ricos en fosfolípidos y pobres en proteínas que los QM de la sangre, llamados partículas secundarias o maduras¹⁵.

- *Síntesis de VLDL:* Las VLDL son transportadoras de triglicéridos endógenos. Son sintetizadas continuamente en el hígado y en el intestino y transportan en menor proporción triglicéridos de origen exógeno. La secuencia de eventos para la formación de las VLDL es parecida a las de los QM. En la zona de transición entre RER y REL (sitio de la síntesis de triglicéridos) se han encontrado partículas osmiofílicas de 300-800 Å de diámetro. Estas partículas se transportan al aparato de Golgi y hacia la membrana plasmática en vesículas secretoras membranosas; las VLDL se descargan luego hacia la circulación o hacia la linfa por fusión de estos dos elementos. Los ésteres de colesterol de las VLDL derivan de la transferencia de colesterol de las HDL a las VLDL, a cambio de triglicéridos¹⁶.

- *Síntesis de LDL:* Las LDL se forman casi exclusivamente en la circulación a partir de la transformación vascular de las VLDL en IDL y, luego en LDL, pero también hay evidencias experimentales que apoyan su producción directa por el hígado.

- *Síntesis de HDL:* Su síntesis no se lleva a cabo en un solo órgano, sus componentes son aportados por varios tejidos o por las lipoproteínas circulantes. Las HDL se constituyen principalmente por Apo A-I, fosfolípidos y colesterol. La Apo A-I sintetizada en el hígado e intestino es secretada en asociación con las Lp ricas en TG (QM y VLDL). Durante la hidrólisis de los TG de estas Lp por la LPL (lipoproteínlipasa) ocurre un fenómeno de intercambio de componentes con las HDL. Los QM y las VLDL ceden la Apo A-I a las HDL y reciben a las apoproteínas C-II, C-III y E de las HDL. Los fosfolípidos y TG son transferidos al núcleo de las HDL y los ésteres de colesterol pasan a formar parte del núcleo de los remanentes de QM y las VLDL. Las HDL, después de la asociación de la Apo A-I y los fosfolípidos, adquieren un aspecto *discoide*, por lo cual se denominan HDL discoides o nacientes. Cuando ocurre un proceso de esterificación del colesterol libre por medio de la enzima LCAT (lecitina colesterol acetil transferasa), éste se desplaza por ser más hidrofóbico de la membrana al núcleo de las HDL discoides transformándose por este proceso en HDL esféricas (HDL₃). Las HDL son partículas heterogéneas que se pueden separar de acuerdo a su densidad en HDL discoides o HDL₂, (menos densas) y HDL₃ (más densas). De estas subclases de HDL, la que guarda una relación inversa más clara con la morbimortalidad por aterosclerosis es la HDL₂, mientras que la HDL₃ parece ser inerte como factor "protector vascular"¹⁷. Las subclases de HDL se pueden interconvertir¹⁸.

¹⁵ Pacheco, L. (2006): Bioquímica Médica, Limusa Noriega Editores, México.

¹⁶ *Ibidem*.

¹⁷ Pérez-Méndez O, et al: Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. Arch Inst Cardiol Méx. 2000; 70:312-321.

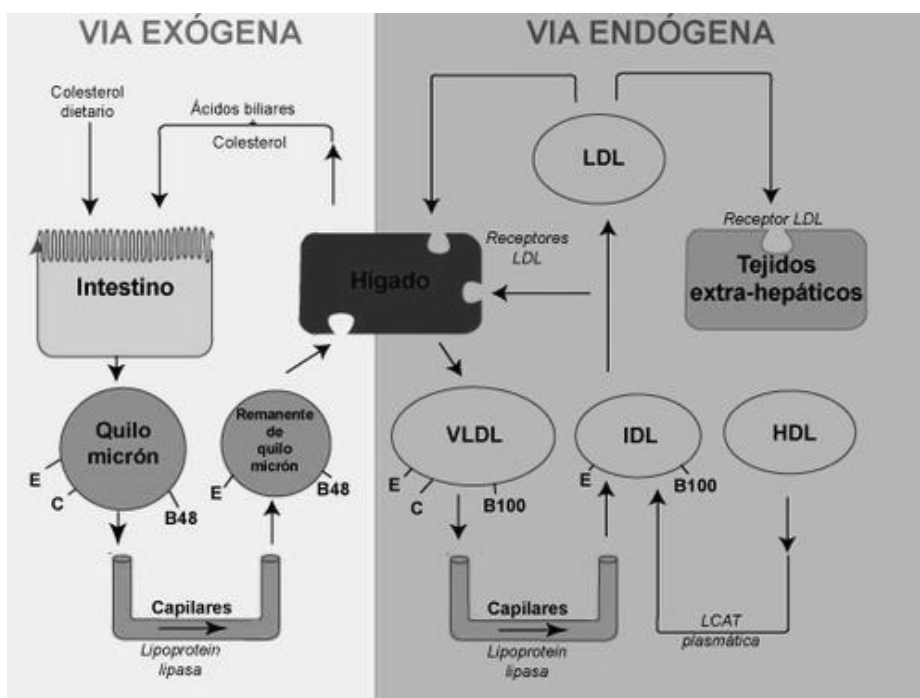
¹⁸ Pacheco, L. (2006): Bioquímica Médica, Limusa Noriega Editores, México.

1.4.1. FACTORES REGULADORES EN LA SÍNTESIS DE LIPOPROTEÍNAS

Las grasas ingeridas en la alimentación aumentan la producción de quilomicrones por el intestino, y la producción hepática de VLDL aumenta cuando existe exceso de ácidos grasos disponibles. Los ácidos grasos insaturados son más eficaces que los saturados para estimular la formación de VLDL, al tiempo que los ácidos grasos de cadena larga producen mayor efecto que los de cadena corta o mediana. Los carbohidratos de la dieta también aumentan la producción de VLDL al aumentar la síntesis de ácidos grasos y estimular la liberación de insulina. El alcohol también aumenta la producción de VLDL al hacer que mayor número de ácidos grasos esté disponible para la síntesis hepática de triglicéridos.

La acción del colesterol en la formación de Lp es complicada y no se comprende todavía en su totalidad. En experimentos con animales una dieta rica en colesterol altera el tipo de moléculas formadas. En los seres humanos una dieta rica en colesterol produce un incremento de LDL presentes en la circulación.

• FIGURA 1.4 Esquema general del metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas.



Fuente:

http://www.basesmedicina.cl/nutricion/606_dislipidemias/contenidos_INTERIOR.htm

1.5 CATABOLISMO DE LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos de la dieta son empaquetados en los quilomicrones; la mayor parte de su contenido en triglicéridos es liberado por la lipasa en los tejidos adiposo y muscular durante el transporte a través de los capilares. Los quilomicrones residuales (que contienen principalmente proteína y colesterol) son captados por el hígado. Los lípidos endógenos y el colesterol del hígado son liberados en el tejido

adiposo y muscular por la VLDL. La extracción de lípidos de la VLDL (junto con la pérdida de algunas apolipoproteínas) la convierte gradualmente en LDL, que transfiere el colesterol a los tejidos extrahepáticos o vuelve al hígado. El hígado capta LDL, VLDL residuales, quilomicrones residuales por un proceso de endocitosis facilitada por el receptor. El exceso de colesterol en los tejidos extrahepáticos es transportado de nuevo al hígado por la HDL. En el hígado parte del colesterol se convierte en sales biliares.

- *Catabolismo de quilomicrones:* La depuración sanguínea de QM es rápida; su catabolismo tiene lugar en dos etapas. En la primera, los QM se adhieren a las células endoteliales de los capilares y sus triglicéridos se hidrolizan por medio de la lipoproteinlipasa (LPL) proceso que requiere la presencia de la apoproteína Apo C-II, parte de los fosfolípidos se hidrolizan por la misma enzima y conjuntamente con la hidrólisis de los triglicéridos, los compuestos superficiales de los quilomicrones, como son Apo C, fosfolípidos y colesterol no esterificado, se transfieren a las HDL. Las partículas producidas en esta primera etapa se denominan *remanentes de quilomicron*. Estos remanentes en una segunda etapa son eliminados de la circulación por el hígado al enlazarse a los receptores hepáticos de alta afinidad para las Apo E. Tan pronto como se enlazan a los receptores, los remanentes se internalizan y sus componentes se hidrolizan para su posterior reutilización¹⁹.

- *Catabolismo de VLDL:* Las VLDL son degradadas en dos etapas; los TG de las VLDL son hidrolizados por la lipoproteinlipasa. Conjuntamente con la hidrólisis de los triglicéridos de las VLDL, los fosfolípidos, el colesterol no esterificado y las Apo C son transferidos de las VLDL a las HDL. En esta primera etapa las VLDL pierden gran parte de sus TG, colesterol y fosfolípidos y casi todas las Apo C. El producto principal del catabolismo de las VLDL es una lipoproteína de densidad intermedia (IDL) conocida también como *remanente de VLDL*, así, dos destinos posibles esperan a las IDL; pueden ser captadas de manera directa por el hígado a través del receptor para IDL (Apo B-100 y Apo E) o convertirse en LDL. Al parecer la mayor parte de las LDL se forman a partir de las VLDL, pero existen evidencias de producción directa en el hígado. La conversión de las IDL (ricas en Apo B) en LDL representa la segunda etapa del catabolismo de las VLDL²⁰.

- *Catabolismo de LDL:* La vida media de las LDL en sujetos normales es de 2.5 a 3.5 días. Las LDL son degradadas tanto en el hígado como en tejidos extrahepáticos (fibroblastos, linfocitos, células de músculo liso arterial, etc.). El hígado reconoce y elimina de la circulación parte de las LDL mediante los receptores para apo B. Las LDL se enlazan a los receptores para Apo B-100 y Apo E y, después de su internalización por endocitosis, la Apo B y los ésteres de colesterol se hidrolizan por enzimas lisosomales.

Parte del colesterol se excreta de las células y el resto se transfiere al citoplasma, donde es reesterificado. La degradación de las LDL por la vía de los receptores LDL de alta afinidad es mucho más eficiente que su degradación por los macrófagos. Sin embargo, la degradación de las LDL vía sistema fagocítico mononuclear adquiere importancia a medida que los niveles de LDL en el plasma se incrementan. Se estima que entre 33% y 66% de las LDL circulantes se degradan por el sistema de los receptores LDL de los hepatocitos y tejidos extrahepáticos, y el resto por las células de Kupffer

¹⁹ Pacheco, L. (2006): Bioquímica Médica, Limusa Noriega Editores, México.

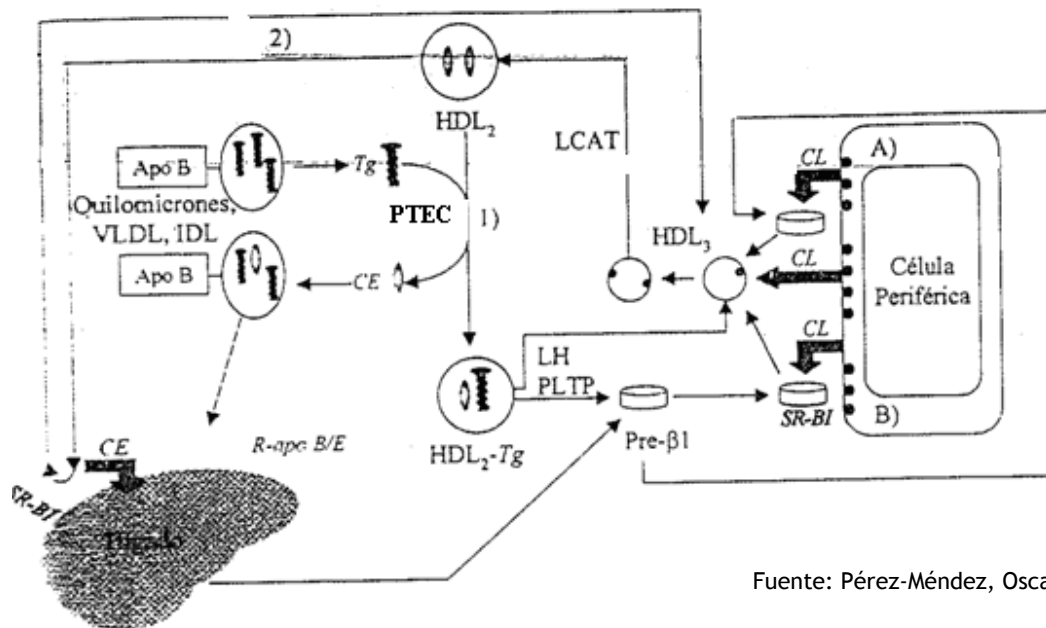
²⁰ *Ibidem*.

en el hígado y por los demás macrófagos del sistema fagocítico mononuclear. Dado que las LDL transportan las dos terceras partes del colesterol circulante, estas partículas son las principales proveedoras de colesterol al hígado y a los demás tejidos del organismo.

La mayor parte de los ésteres de colesterol de las LDL representan colesterol reciclado; el colesterol libre de las VLDL de origen hepático es transferido a las HDL para su reesterificación por la LCAT (lecitina colesterol acil transferasa) y su transferencia en forma esterificada a las IDL por la PTEC (proteína de transferencia de ésteres de colesterol); las IDL a su vez se degradan a LDL, entregando parte de su colesterol al hígado. El colesterol esterificado que se acumula en los tejidos extrahepáticos y en los macrófagos se hidroliza a colesterol libre por la colesterol hidrolasa, y el colesterol libre se secreta hacia los compartimientos intravasculares e intersticiales, donde se incorpora a las HDL, que lo transportan al hígado después de su esterificación por la LCAT.

- **Catabolismo de HDL:** Una función importante de las HDL es retirar el exceso de colesterol de los tejidos y canalizarlo para su depósito en el hígado. La importancia de esta función reside en que el núcleo esteroideo no puede ser degradado y el hígado es el único órgano que puede librar al cuerpo del exceso de colesterol, el cual se segrega a la bilis para su excreción en las heces. Al proceso de transporte de colesterol desde los tejidos extrahepáticos al hígado se le denomina transporte inverso de colesterol²¹, como se detalla en la fig. 1.5.

• FIGURA 1.5 Esquema general del transporte reverso del colesterol, donde también se ejemplifican pasos del catabolismo de las lipoproteínas.



Fuente: Pérez-Méndez, Oscar, et al.(2000).

²¹ Pacheco, L. (2006): *Bioquímica Médica*, Limusa Noriega Editores, México.

El colesterol captado por las HDL puede dirigirse hacia el hígado para su excreción por la bilis por 2 vías principales:

Vía 1) Por acción de la PTEC (Proteína de Transferencia de Ésteres de Colesterol):

Se transfiere el colesterol esterificado hacia las VLDL y LDL las cuales entregan a su vez el colesterol mediante los receptores B100:E.

Vía 2) Por captación selectiva de colesterol a través del receptor scavenger SR-B1:

Los receptores SR-B1 se encuentran principalmente en hígado, glándulas suprarrenales, ovarios y testículos. Son un componente clave en la ruta del transporte reverso del colesterol, en donde se unen al HDL con alta afinidad, además de que se encuentran involucrados en la transferencia selectiva vía receptores de HDL mediante la captación selectiva de colesterol.

Cuando la HDL no es catabolizada vuelve a la periferia para captar más colesterol. En caso de existir un incremento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la PTEC condiciona un flujo de triglicéridos de VLDL hacia HDL y se transfiere el colesterol esterificado desde las HDL hacia las VLDL y LDL. Se generan HDL pequeñas, ricas en triglicéridos, más afines a la lipasa lipoproteica hepática y que van preferentemente a catabolismo terminal y excreción de la Apo-A1 por vía renal. Esto explica la frecuente asociación observada en clínica, de triglicéridos altos y colesterol de HDL bajo. Este mismo fenómeno sucede con las LDL. Las LDL enriquecidas en triglicéridos son catabolizadas en el hígado por la lipasa lipoproteica hepática y se hacen más densas y pequeñas, más oxidables y poco afines a los receptores fisiológicos de LDL y son mayormente captadas por los receptores de macrófagos SR-A (que no regulan el colesterol intracelular). Los macrófagos acumulan colesterol y se transforman en células espumosas características del daño vascular aterosclerótico.

1.6 APOLIPOPROTEÍNAS Y SU FUNCIÓN METABÓLICA

Una apolipoproteína (APO) es una proteína que se combina con un lípido para formar una lipoproteína (“apo” designa la proteína en su forma libre de lípido).

Alaupovic propuso la nomenclatura en 1980; en ella las apoproteínas se denominan según el patrón electroforético de las lipoproteínas que las contengan en mayor cantidad, por consiguiente, las apo A predominan en las Lp alfa, las apo B en las lipoproteínas beta y las apo C en los quilomicrones²².

Al menos nueve apolipoproteínas diferentes se encuentran en las lipoproteínas del plasma humano²³. Las apolipoproteínas pueden diferenciarse por su tamaño, reacciones con anticuerpos específicos y distribución característica en las clases de lipoproteínas. Estos componentes proteicos

²² Zagoya-Oropeza, “Bioquímica. Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida”. Mc Graw - Hill, India, 2007.

²³ Vance, DE – Vance, JE. (1985): *Biochemistry of Lipids and Membranes*. The Benjamin/Cumming Publishing Company, , CA, USA.

actúan como señales, dirigiendo las lipoproteínas a tejidos específicos o como activadores de enzimas que actúan sobre las lipoproteínas.

Existen además, subgrupos de apoproteínas que difieren no solo en su composición, sino también en su función. Las funciones identificadas se pueden dividir en tres categorías:

1. Regulación de la actividad enzimática
2. Unión a receptor
3. Participación en la síntesis *de novo* de la lipoproteína (es decir, formación de la partícula)

Los pesos moleculares de las apoproteínas varían desde 6.5 kDa hasta más de 500 kDa y su producción se lleva a cabo sobre todo en hígado e intestino, pero también las células periféricas son capaces de sintetizarlas, como sucede con la apo E, que pueden elaborar los macrófagos.

Con la excepción de la apo B en su forma normal (apo B-100) o trunca (apo B-48), todas las apoproteínas se pueden intercambiar entre las diferentes lipoproteínas, ya sea sea en forma espontánea o en procesos mediados por enzimas.

El papel de las apoproteínas en el metabolismo de las Lp es muy importante, pues hasta defectos en la interacción de la apoproteína con su receptor pueden aumentar el riesgo de enfermedad isquémica del miocardio. Las APO, son importantes para la integridad estructural. Ellas actúan como ligandos para los receptores de las Lp y por lo tanto influyen en el vida media de las lipoproteínas en el plasma.

▪ TABLA 1.3 Propiedades de las principales apolipoproteínas

APOLIPOPROTEÍNAS	PESO MOLECULAR Kda	CONCENTRACIÓN EN PLASMA g/l	FUNCIÓN METABÓLICA
Apo AI	28,000	1.0 - 1.5	Activar enzima LCAT
Apo AII	17,000	0.3 - 0.5	----
Apo AIV	46,000	0.15 - 0.20	Secreción de quilomicrones y transporte reverso de colesterol.
Apo B48	250,000	0.5	Secreción de quilomicrones
Apo B100	513,000	0.8 - 1.0	Interacción con receptor LDL
Apo CI	6,500	0.04 - 0.07	Activación de LCAT
Apo CII	8,500	0.03 - 0.08	Cofactor de LPL
Apo AIII	8,750	0.8 - 0.15	Inhibición de LPL y su receptor
Apo E	39,000	0.03 - 0.06	Interacción con receptor LDL y receptor Apo E

Fuente: Zagoya-Oropeza. (2007)

1.6.1 APOLIPOPROTEÍNAS COMO MARCADORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

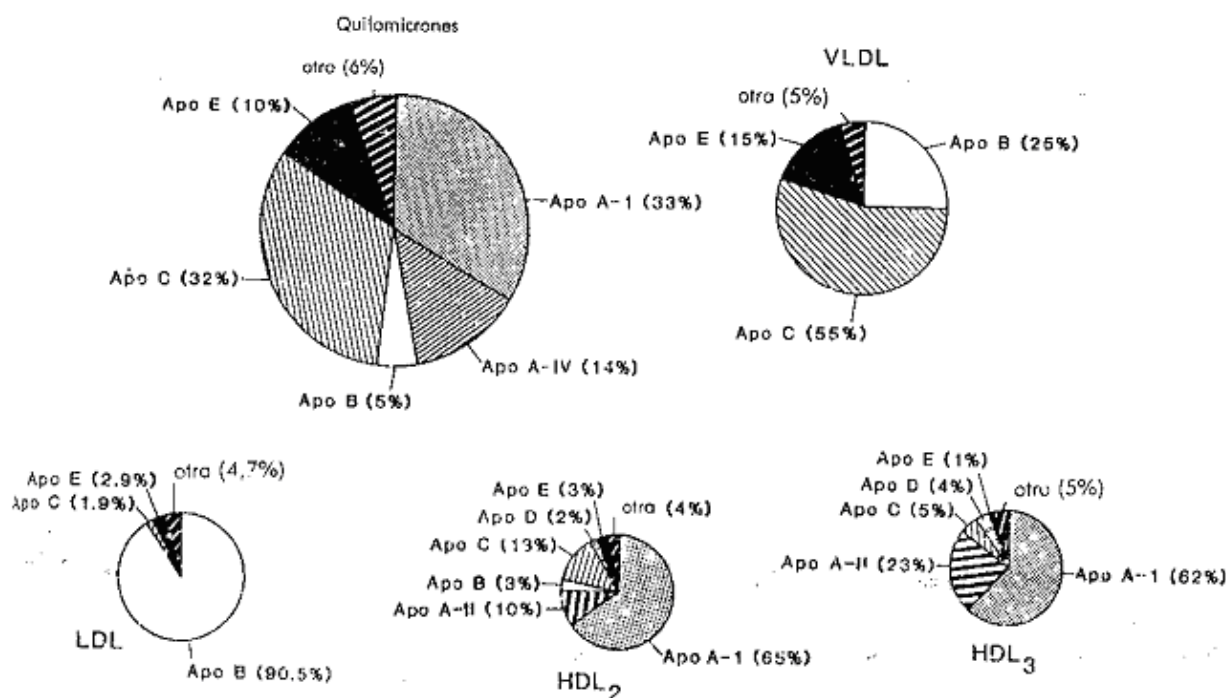
Hasta ahora se medían las concentraciones del colesterol LDL como primer índice del riesgo de enfermedad cardiovascular, pero actualmente está siendo superior la proporción apolipoproteína B/ apolipoproteína A-1 a la proporción convencional de colesterol LDL/ HDL en el índice total de riesgo cardiovascular. Existen dos APO que han sido ampliamente investigadas como marcadores de riesgo cardiovascular, estas son: la apolipoproteína A y la apolipoproteína B. En la Figura 1.6 se representa la distribución porcentual y la localización de las diferentes Apoproteínas en las diversas clases de lipoproteínas.

APOLIPOPROTEÍNA A:

La apolipoproteína A (Apo A) se encuentra asociadas a las lipoproteínas HDL. La Apo A-I es la apolipoproteína más abundante en el plasma; está presente casi en forma total en HDL y constituye cerca del 90% y 60-70% de la fracción proteica en las subfracciones HDL₂ y HDL₃ respectivamente. Los niveles plasmáticos de Apo A-I son generalmente mayores en mujeres y correlacionan positivamente con la concentración de HDL-Colesterol. Esta correlación no es válida en sujetos con hipertrigliceridemia, en donde la fracción HDL está enriquecida con triglicéridos y casi ausente el colesterol.

La Apo A-I es sintetizada inicialmente en el hígado e intestino como un precursor proteico, el cual es degradado hasta su forma madura en plasma, que es una simple cadena polipéptida que contiene 243 aminoácidos. Como el componente proteico de mayor concentración de HDL, participa activamente en el "transporte reverso de colesterol" (ver Figura 1.5), actúa como activador de la enzima lecitin-colesterol-acetiltransferasa (LCAT), y como ligando para el complejo receptor-HDL, localizado en el hepatocito y sobre diversas células periféricas.

● FIGURA 1.6 Distribución porcentual de las Apolipoproteínas (Apo) entre las clases de lipoproteínas. Fuente: Hemming, F. - Hawthorne, J. (2001).



La apolipoproteína Apo A-II es el segundo componente proteico de mayor concentración de HDL, aunque está ausente en la subfracción HDL₂, este mismo constituye la tercera parte como componente proteico de HDL₃.

La apolipoproteína A-IV se encuentra en concentraciones mínimas en el plasma y es aquí donde circula en forma libre, también se encuentra unida a los quilomicrones y a las Lp HDL (cerca del 50%).

APOLIPOPROTEÍNA B:

La apolipoproteína B es una proteína con gran peso molecular, presente en los quilomicrones, lipoproteínas VLDL y LDL. Las concentraciones plasmáticas de Apo B se encuentran en el rango de 0.8 - 1.0 g/l en individuos normolipémicos. Su concentración es directamente correlacional con los valores de colesterol total y colesterol HDL.

Dos formas moleculares llamadas Apo B100 y Apo B48, existen en plasma. La primera es una simple cadena polipeptídica de 4,536 aminoácidos; es una de las proteínas más grandes que existen en el plasma, sintetizada en el hígado y secretada dentro de VLDL. Esta es cuantitativamente mantenida durante la conversión de VLDL a IDL hasta LDL, de la cual es el único componente proteico. La Apo B 100 es indispensable para el acoplamiento de las partículas de lipoproteínas (VLDL). Esta juega un papel importante como molécula, ligando para LDL y su receptor. También participa en la regulación de los niveles de colesterol a nivel sanguíneo.

La Apo B48 está constituida por una cadena polipeptídica de 2,152 aminoácidos (estos aminoácidos son similares a los de Apo B 100, por lo tanto, Apo B48 es el 48% similar con respecto de Apo B 100). Los niveles plasmáticos de Apo B48 en un sujeto normal en un periodo de ayuno, es de 50 veces menor respecto de la concentración de Apo B 100. Esta concentración tiene un remarcado incremento durante el periodo postprandial.

APOLIPOPROTEÍNA C:

Es una familia de proteínas de bajo peso molecular incluyendo la Apo C-I, C-II y C-III. Las tres apolipoproteínas difieren en su peso molecular, composición de aminoácidos y su función. Las apolipoproteínas C son sintetizadas en mayor proporción en el hígado y en menor proporción en intestino; están presentes en lipoproteínas que integran en su mayor parte triglicéridos, tal es el caso de quilomicrones, VLDL, HDL. La Apo C en plasma tiene un importante papel, manteniendo el equilibrio dinámico entre HDL, quilomicrones y VLDL. La concentración plasmática en sujetos normales es muy bajo, 0.03 g/l para Apo C-II y 0.15 g/l para Apo C-III. Sólo se puede observar un incremento en periodos postprandiales y en pacientes con hipertrigliceridemia.

APOLIPOPROTEÍNA E:

La Apo E es un polipéptido de 299 aminoácidos, encontrándose en VLDL e LDL y como una subfracción de HDL llamada HDL1. La concentración plasmática en sujetos normales es de 0.03 - 0.07 g/l y se llega a incrementar 2 a 3 veces por hiperlipoproteinemia y en un padecimiento conocido como enfermedad beta-ancha, caracterizada por la presencia de una banda gruesa de lipoproteínas que emigra a la región pre-beta en un corrimiento electroforético. La Apo E se encuentra los

humanos en tres isoformas reconocidas por análisis isoelectrico, llamadas E2, E3 y E4.

1.6.2 EVALUACIÓN DEL RIESGO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES CON LA MEDICIÓN DE LAS APOLIPOPROTEÍNAS.

El papel de las apoproteínas en el metabolismo de las Lp es sumamente importante, pues hasta defectos en la interacción de la apolipoproteína con su receptor pueden aumentar el riesgo de enfermedad isquémica del miocardio²⁴.

Debido a la composición de las apolipoproteínas, la mayor parte de las técnicas para su cuantificación aprovechan las propiedades de las proteínas para su separación y análisis, lo cual se ha logrado traducir en los siguientes datos:

La concentración plasmática de Apo A-I se encuentra reducida un 15% y la concentración de Apo B, incrementada 43% en pacientes con infarto de miocardio, cuando es comparada la concentración de individuos sanos control²⁵.

La relación Apo A-I/B (relación entre apolipoproteínas anti-aterogénicas y aterogénicas) se redujo un 40% en pacientes con infarto al miocardio, estos niveles y su relación manifiestan un valor discriminante entre pacientes normales y en riesgo cardiaco, con mayor evidencia y claridad que los parámetros clásicos lipídicos y lipoproteicos.

En diversos estudios se ha confirmado la disminución, a veces moderada, de Apo A-I y el incremento marcado y constante de los niveles de Apo B, en pacientes con infarto al miocardio y que generalmente manifiestan complicaciones vasculares.

La evaluación de apolipoproteínas en pacientes sujetos a una angiografía coronaria ha indicado la existencia de una fuerte correlación de los valores Apo A-I y Apo B como el marcador coronario que refleja un deterioro del sistema arterial. La relación Apo A-I/B debe usarse no únicamente para identificar a sujetos con riesgo coronario, sino también como un índice importante de la severidad y progreso de la enfermedad aterosclerótica.

Otras evaluaciones de apolipoproteínas que se han adicionado a las clásicas determinaciones de Apo A-I y Apo B durante años, son los análisis de Apo A-II y Apo E, pero hasta el momento no existe una correlación de resultados para definir un riesgo cardiovascular²⁶.

²⁴ Zagoya-Oropeza. (2007): *Bioquímica. Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida*. Mc Graw - Hill, India.

²⁵ Pérez-Méndez O, et al: Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. Arch Inst Cardiol Méx. 2000; 70:312-321.

²⁶ Sharrett AR, Ballantyne CM, et al.

**Capítulo
2**

**• LABORATORIO
Y DIAGNÓSTICO**

2.1 CONSIDERACIONES BÁSICAS DE LA MUESTRA SANGUÍNEA

Para los análisis de rutina de Lp, se deben tener algunas consideraciones:

- ❖ La muestra debe ser obtenida tras un periodo de ayuno de 12 a 14 horas: Para asegurarse un estado post-absortivo. La determinación de colesterol total y colesterol-HDL no requieren ayuno, pero dado que suelen acompañar a la determinación de triglicéridos, se indica el mismo período de ayuno. En condiciones normales y en ayunas, el aspecto del suero es límpido. Cuando se incrementan las concentraciones plasmáticas de VLDL y/o aparecen quilomicrones, el suero se enturbia debido al gran tamaño de estas partículas. Si el tiempo de ayuno no es el adecuado, puede apreciarse opalescencia en el suero, debido a la presencia de quilomicrones, con valores de triglicéridos que no necesariamente superan el rango normal. En cambio, la LDL, por su tamaño, nunca va a otorgar un aspecto lactescente al suero. Esto explica por qué la hipercolesterolemia cursa con suero límpido.
- ❖ Haber estado ingerido una dieta normal: La dieta previa al estudio debe ser la habitual, con la única advertencia de no ingerir alcohol 24 hs antes de la extracción.
- ❖ No haber ingerido alcohol antes de la obtención de la muestra, ya que éste puede incrementar las concentraciones plasmáticas de Lp ricas en triglicéridos y HDL.²⁷
- ❖ Se recomienda utilizar preferentemente plasma con el uso de 30 mg de EDTA disódico por 10 ml de sangre (aunque también puede utilizarse suero): se debe evitar el uso de heparina como anticoagulante ya que interfiere con varias de las técnicas de separación de las Lp.²⁸ El plasma tiene la ventaja de poder separarse y enfriarse rápidamente además de que el EDTA previene la peroxidación lipídica e inhibe enzimas bacterianas. Sin embargo, los valores obtenidos en plasma, ya sea para colesterol como para triglicéridos, son aproximadamente 3% más bajos que en suero. En caso de optar por suero es recomendable realizar la extracción en tubos que contengan acelerador de la coagulación.
- ❖ Conservar la muestra en refrigeración hasta su análisis aproximadamente a 4°C: La muestra, para la mayoría de los parámetros lipídicos es estable a 0-4 °C por 4 días. Para conservar por períodos más prolongados se debe tener en cuenta que la estabilidad es superior a -70°C que a -20°C. Durante 6 meses se mantienen los parámetros estables, excepto la determinación de apo B, que tiende a disminuir cuando el suero se congela.
- ❖ En el caso de que el paciente utilice algún tipo de medicamento que altere el metabolismo lipídico, debe suprimirse la medicación por un mínimo de un mes antes del estudio: No se recomienda suspender drogas hipolipemiantes ni otros medicamentos que constituyan tratamientos prolongados o de por vida. En caso de haber ocurrido alguna situación de estrés,

²⁷ C.A., Converse, "Lipoprotein Analysis a Practical Approach", Oxford University Press, England, 1992, Pág. 10.

²⁸ *Ibídem.*

como un infarto de miocardio o una intervención quirúrgica, el estudio lipídico deberá realizarse después de transcurridos 3 meses. Asimismo, si hubo modificaciones dietéticas o de peso corporal dentro de las 2-3 semanas previas a la extracción o hubo indicación de algún tratamiento circunstancial con drogas que afectan el metabolismo lipídico (por ej. corticoides) conviene diferir el estudio 3 semanas más adelante.

2.2 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN TRADICIONALES

La prueba de perfil de lípidos normal ayuda a determinar de qué tipo de lipoproteínas contiene la muestra de sangre de interés, así como la relación las lipoproteínas de alta y baja densidad, así como también la cantidad de colesterol total. Esta prueba también mide los triglicéridos, en virtud de que esta clase de lípidos también puede afectar el riesgo de enfermedad cardíaca.

Existen varios procedimientos para separar a las Lp en sus diferentes clases. Las técnicas más utilizadas comúnmente en los laboratorios clínicos se presentan de manera ilustrativa en la Figura 2.1, entre las cuales se encuentran: precipitación con polianiones, la electroforesis en gel de gradiente (GGE), métodos enzimáticos, métodos inmunológicos, mediante la ecuación de Friedewall y por ultracentrifugación.



● FIGURA 2.1
Métodos tradicionales de cuantificación de las lipoproteínas.

2.2.1 ECUACIÓN DE FRIEDEWALD

La fórmula de Friedewald nos permite averiguar la fracción de colesterol LDL; si conocemos el colesterol total (CT), la fracción HDL y los triglicéridos (TG). Su cálculo se realiza del siguiente modo:

$$\text{LDLc} = \text{CT} - (\text{HDLc} + \text{TG}/5) \text{ en mg/dl}$$

$$\text{LDLc} = \text{CT} - (\text{HDLc} + \text{TG}/2.21) \text{ en mmol/L}$$

Existe, no obstante, una limitación a la utilización de esta fórmula y es cuando los triglicéridos superan los 400 mg/dl situación que como conocemos no es excepcional. También, aunque es mucho menos frecuente, cuando existe una disbetalipoproteinemia, ya que las beta- VLDL contienen más colesterol que las VLDL normales ó si el paciente es homocigoto para la apo E.

Se ha decidido incluir en la técnicas tradicionales para la cuantificación de las proteínas, debido a que es base en muchos laboratorios clínicos e inclusive para un gran número de médicos. Sus ventajas y desventajas se discutirán posteriormente.

RESUMEN DE LAS TÉCNICAS TRADICIONALES:

Cada clase de LP está formada por varias subclases. Los sistemas de purificación para separar y estudiar las subclases se basan en diferencias de tamaño (por ejemplo ultracentrifugación zonal o filtración en gel), de densidad (por ultracentrifugación en gradiente de densidad continuo o por ultracentrifugación zonal), carga (por electroforesis) y tipo de proteína (métodos inmunoquímicos).

Con estos métodos se pueden aislar y caracterizar, por ejemplo, tres formas diferentes de LDL y HDL.

La complejidad y diferente composición de las clases y subclases de LP hacen difícil una cuantificación composicional exacta de LP específicas; de todas formas, en la mayoría de los casos no es necesaria una información tan detallada. Algunos análisis son muy importantes en aplicaciones clínicas, como por ejemplo la concentración de HDL-colesterol en plasma, ya que es un factor de riesgo negativo para la enfermedad coronaria.

El colesterol LDL se puede calcular rápidamente por fórmula; como la diferencia entre el HDL y el colesterol plasmático total. El cálculo tiene en cuenta la relación colesterol -Tg en las VLDL y LDL y la proporción normal de Tg plasmático que se encuentra en las VLDL. Para realizar el cálculo se necesita conocer los Tg totales en el plasma (tema que no se tratará en esta sección). Otra alternativa es la determinación de LDL en la fracción de LDL aislada por centrifugación en gradiente de densidad o por pp con polianiones. La cantidad de LDL también se puede estimar a partir de inmunoanálisis para la apolipoproteína B100.

2.2.2. PRECIPITACIÓN DIFERENCIAL DE LIPOPROTEÍNAS y PRUEBA ESPECTROFOTOMÉTRICA SEMIENZIMÁTICA

Para que las lipoproteínas puedan ser analizadas requieren una etapa previa de separación. Las proteínas precipitan en presencia de poli aniones como el sulfato de heparina o en presencia de cationes divalentes como el Ca^{+2} , Mg^{+2} y Mn^{+2} . Dicha precipitación está influida por varios factores pero se han establecido condiciones para que las principales proteínas precipiten escalonadamente; empezando por las de menor densidad. Para lo cual, existen diferentes métodos de separación:

El método de precipitación diferencial se puede realizar con la utilización de los siguientes reactivos precipitantes:

- Sulfato de heparina
- Sulfato de dextrano
- Fosfotungsteno

Esta prueba separa el nivel de Colesterol total en las proporciones de Lipoproteínas de alta densidad y Lipoproteínas de baja densidad, proporcionando un indicador o riesgo de cardiopatías coronarias más exacto que la simple prueba de colesterol total.

Se utiliza principalmente para la obtención de la concentración de HDL mediante la precipitación de las Lp con polianiones. Por ejemplo, en el caso de la utilización: al mezclar el ácido fosfotúngstico con MgCl , se produce una precipitación de los quilomicrones, VLDL y LDL. Posteriormente se centrifuga y el HDL queda en el sobrenadante, de aquí se toma una pequeña muestra que es utilizada para que en conjunto con otras técnicas semienzimáticas y espectrofotométricas se obtengan mediante cálculos numéricos los valores de colesterol correspondientes:

1. Se pipetea en un tubo de centrifuga de 100 μL de muestra + 250 μL de reactivo de precipitación (mezcla de ácido fosfotúngstico y MgCl) y se homogeniza.
2. Mezclar y dejar en reposo 10 min a temperatura ambiente y centrifugar por 30 minutos a 5000 rpm.
3. Se puede tomar las muestras de sobrenadante que se requieran para determinar el HDL. Mediante técnicas espectrofotométricas-colorimétricas-semienzimáticas con base en las lecturas de absorbancia y cálculos posteriores determinar la concentración de CT, C-HDL y el índice aterogénico.

En relación a los otros reactivos precipitantes, el fundamento de la técnica es muy similar.

Una cuidadosa precipitación con polianiones ha permitido el subfraccionamiento de las HDL en HDL2 (precipitada) y HDL3, se puede determinar el colesterol-HDL3 y calcular el colesterol-HDL2 por diferencia con el colesterol HDL total. Un valor bajo de colesterol-HDL2 se ha correlacionado con un riesgo más alto de sufrir enfermedad cardiovascular temprana²⁹.

²⁹ Hemming, F. - Hawthorne, J. (2001): *Análisis de lípidos*. Ed. Acribia, S.A., España.

A continuación, en la tabla 2.1 se muestran los reactivos precipitantes más utilizados y la relación a la clase de Lp que precipita.

■ TABLA 2.1 Relación de reactivos precipitantes y lipoproteínas que precipitan

REACTIVO	SI PRECIPITA	NO PRECIPITA
Heparina (0.25% p/v) con Mg ²⁺ o Ca ²⁺ (0.1 M)	QM y VLDL	LDL y HDL
Heparina (0.1% p/v) con Mn ²⁺ o Co ²⁺ (0.05 M)	QM, VLDL Y LDL	HDL
Fosfotungstato sódico (0.05% p/v) con Mg ²⁺ (0.1 M)	QM y VLDL	LDL y HDL
Fosfotungstato sódico (0.2% p/v) con Mg ²⁺ (0.1 M)	LDL	
Fosfotungstato sódico (2.0% p/v) con Mg ²⁺ (0.2 M)	HDL	

Fuente: Mills, G.L. Love, P.A. and Weech, P.K. (1984).

2.2.3 ELECTROFORESIS EN GEL DE GRADIENTE (GGE)

Para el laboratorio clínico ordinario, uno de los métodos más prácticos de separación se efectúa por métodos electroforéticos. En teoría este método es semejante a la electroforesis de proteínas, excepto que existe un colorante que se combina con los lípidos con preferencia a las proteínas. La electroforesis de Lp se ha realizado con el empleo de papel, acetato de celulosa, agar o gel de agarosa, gel de almidón o gel del poliacrilamida³⁰; cada método posee sus propias ventajas, pero lo más común es utilizar en el laboratorio el mismo método que se usa en la electroforesis de proteínas.

La electroforesis es un método de laboratorio en el que se utiliza una corriente eléctrica controlada con la finalidad de separar biomoléculas según su tamaño y carga eléctrica a través de una matriz gelatinosa y gracias a las propiedades electroforéticas de las Lp, este método es ampliamente utilizado en la práctica clínica.

Fue empleado por primera vez por en el año 1937, pero su importancia vino a incrementarse cuando en los años cincuenta E. L.Durum y Arne W.K. Tiselius , impulsaron la electroforesis de zona, nombre que se asignó a la separación de materiales en un campo eléctrico en presencia de algún tipo de soporte; aunque este término se limitó originalmente al análisis de coloides y partículas submicroscópicas , se ha convertido en estos últimos años en una metodología aplicada a sustancias de bajo peso molecular.

³⁰ Bauer, J.D., "Análisis clínicos. Métodos e Interpretación", Ed. Reverté S.A., España, 1986, Pág. 608 – 611.

FUNDAMENTO:

Cuando una mezcla de moléculas ionizadas y con carga neta son colocadas en un campo eléctrico, estas experimentan una fuerza de atracción hacia el polo que posee carga opuesta, dejando transcurrir cierto tiempo las moléculas cargadas positivamente (cationes) se desplazarán hacia el cátodo (el electrodo negativo) y aquellas cargadas negativamente (aniones) se desplazarán hacia el ánodo (el electrodo positivo), esta característica es debida a las propiedades eléctricas de las proteínas contenidas en las Lp.

El movimiento de las moléculas está gobernado también por dos fuerzas adicionales; inicialmente la fricción con el solvente dificultará este movimiento originando una fuerza que se opone, por otro lado las moléculas tienen que moverse en forma aleatoria o movimiento browniano debido a que poseen energía cinética propia denominado difusión. La energía cinética de las moléculas aumenta con la temperatura, por ello a mayor temperatura mayor difusión.

La suma de todas estas fuerzas provoca que las moléculas no migren de una manera homogénea, de tal manera que, si las moléculas son colocadas en un cierto lugar de solución, los iones comenzarán a moverse formando un frente cuya anchura aumentará con el tiempo.

Para reducir la anchura de este frente podemos reducir el movimiento de las moléculas empleando un medio que oponga más resistencia a dicho movimiento. Una forma común de hacer esto es formar un gel. El gel consiste de un polímero soluble de muy alto peso molecular que atrapa moléculas de agua y forma un tamiz que dificulta el movimiento de los solutos, consecuentemente, la migración electroforética de las moléculas será más lenta, pero el ensanchamiento del frente se verá reducido también.

Los métodos electroforéticos zonales son útiles para lograr la separación de mezclas complejas. Se aplican pequeñas cantidades de la disolución de proteínas a un soporte sólido, que se impregna con una solución tampón. 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 y disminuyen los flujos de convección del solvente.

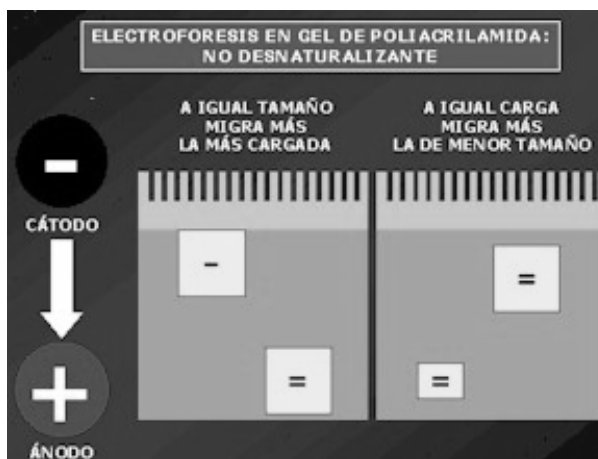
Como soporte han sido utilizados papel (celulosa), almidón, poliacrilamida, agarosa y acetato de celulosa, entre otros. Este método tiene gran poder resolutivo por que se aplica una cantidad pequeña de proteína a una zona estrecha, mientras que la longitud del trayecto es mucho mayor que la zona de aplicación. El equipamiento requerido es simple, fuente de poder, cubeta vertical u horizontal donde se colocan el soporte y dos electrodos. Los más utilizados en la cuantificación de Lp son la electroforesis en gel de gradiente, en gel de poliacrilamida y en gel de agarosa.

ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA:

Uno de los métodos más rápidos y que requiere cantidades pequeñas de muestra es la electroforesis en un gel con gradiente de poliacrilamida y en condiciones que no produzcan desnaturalización de las proteínas. En la figura 2.2 se puede apreciar el patrón normal de migración de las proteínas en base a su tamaño y carga.

Los geles de poliacrilamida se forman por polimerización de la acrilamida por acción de un agente entrecruzador, es químicamente inerte, de propiedades uniformes, capaz de ser preparado de forma rápida y reproducible. Forma, además, geles transparentes con estabilidad mecánica, insolubles en agua, relativamente no iónicos y que permiten buena visualización de las bandas durante un tiempo prolongado. Además tiene la ventaja de que variando la concentración de polímeros, se puede modificar de manera controlada en el tamaño del poro, lamentablemente cada vez se emplea menos en diagnóstico debido a su neurotoxicidad.

• FIGURA 2.2
Electroforesis en gel de poliacrilamida.



Fuente: Berkelman T., Stenstedt T. (1998)

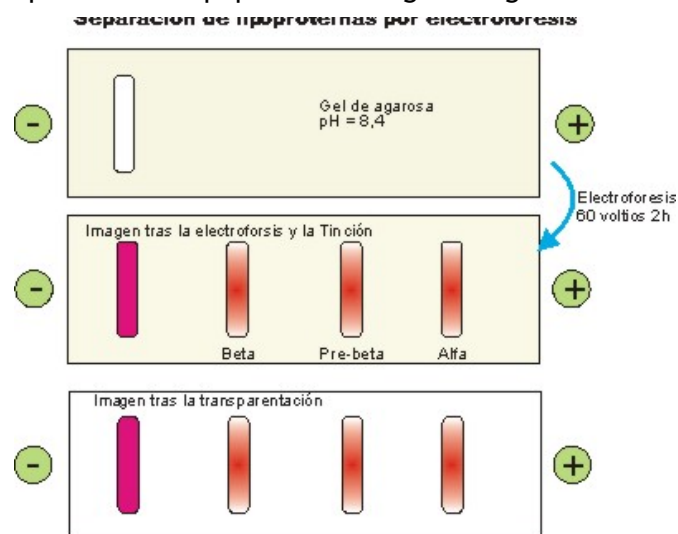
El uso de geles de poliacrilamida que tienen un gradiente creciente de concentración de acrilamida + bisacrilamida, y en consecuencia un gradiente decreciente en el tamaño del poro, pueden tener ventajas sobre los geles de concentraciones uniformes de acrilamida. En un gel en gradiente la proteína migra hasta alcanzar una zona donde el tamaño de poro impida cualquier avance. Una vez se alcanza el límite del poro no se produce una migración apreciable aunque no se detiene completamente. Una de las ventajas de este tipo de geles es que resuelve mejor las bandas pues las concentra en regiones más estrechas, además de incrementar el rango de pesos moleculares que se pueden resolver en un mismo gel comparado con los de una concentración fija.

Es preferible usar este método con subfracciones de plasma obtenidas por ultrafiltración en gradiente de densidad. En este caso, cuando se analiza una parte definida del gradiente de densidad, bastaría con la presencia de una banda de proteína/lípido de la movilidad electroforética adecuada para definir la clase de lipoproteína. La detección de proteína en el electroforetograma se lleva a cabo mediante un "revelado" con diferentes colorantes, entre los que se encuentran: Negro Sudán B, por tinción de con azul de Comassie (generalmente) y el lípido con aceite rojo O. Esta última tinción no se ve afectada por la presencia de proteínas plasmáticas, pero la detección con azul de Comassie puede sufrir interferencias. La presencia de lipoproteínas en el eluyente de columnas con geles de exclusión molecular se puede detectar por absorción de luz a 280 nm.

En cuanto a los lipidogramas o electroforetogramas, al revelarse, se pueden apreciar principalmente tres bandas: las cuales corresponden a las regiones α para el caso de las HDL, β para las LDL y pre- β para las VLDL. En relación a este método, se puede decir que es ampliamente utilizado dentro de los laboratorios clínicos.

Mediante electroforesis en un gradiente de gel de poliacrilamida se puede confirmar la proporción de las diferentes Lp y de las fracciones separadas en una muestra de suero humano. Una tinción diferencial para proteínas, lípidos y colesterol puede aportar información semicuantitativa, en la Figura 2.3 se presenta una ilustración general de la separación de Lp por el método de electroforesis.

• FIGURA 2.3 Separación de lipoproteínas en gel de agarosa



Fuente: http://www.google.com.mx/images=http://tomas./figuras/separa_electroforesis.jpg

2.2.4 ULTRACENTRIFUGACIÓN

Las Lp se han separado mediante ultracentrifugación en diferentes clases. Este método precisa de un equipo especial que hasta ahora sólo poseen algunos laboratorios de investigación. No obstante, es una técnica ampliamente reconocida para este efecto, pudiendo combinarse con algunas otras técnicas para aumentar la exactitud, como por ejemplo: la ultracentrifugación con gradiente de densidad secuencial.

Es un sistema que se suele realizar empleando la ultracentrífuga. Consiste en la separación de las partículas en función de su densidad de flotación. La muestra se dispone por encima o se mezcla con un gradiente de densidad más pronunciado que el del caso anterior, y que contiene una concentración muy elevada de glicerol, ficoll, metrizamida, de cloruro de cesio, sulfato de cesio o percoll. Al centrifugarse, cada subclase de Lp se desplazará hacia arriba o hacia abajo hasta que alcance una posición en la que su densidad sea igual a la de su entorno (situación de flotabilidad neutra) y ya no se desplazará más. Como consecuencia se producirán una serie de bandas discretas, las más próximas al fondo del tubo contendrán las partículas con mayor densidad de flotación. Este método también se conoce como equilibrio en gradiente de densidad.

La centrifugación de equilibrio en gradiente permite que las especies sedimentantes se muevan por el gradiente hasta que alcanzan un punto donde su densidad y la del gradiente son idénticas, por lo cual también se le llama centrifugación isopícnica, ésta técnica es muy adecuada para el caso de las Lp, debido a que las subclases de Lp poseen diferentes densidades. En este punto no se producirá una sedimentación posterior debido a que flotan sobre un "colchón" de material que posee una densidad superior que la suya propia.

Para la ultracentrifugación en gradiente de densidad se utiliza generalmente un rotor extraíble y un gradiente de densidades conseguido con una disolución de bromuro potásico con intervalos de densidad de 0.94 a 1.31 g/ml^{-1} (de la parte superior del tubo de centrifuga a la inferior), apropiados para las diferencias de densidad deseadas. En la Figura 2.4, se aprecia que al final de la centrifugación las capas de Lp pueden verse como bandas que producen dispersión de luz en las zonas interfaciales de las diferentes soluciones de densidad. Para obtener preparaciones lo suficientemente puras de una determinada clase de LP puede ser necesario repetir la centrifugación. Las bandas de LP se pueden recuperar con una pipeta capilar o por punción del tubo.

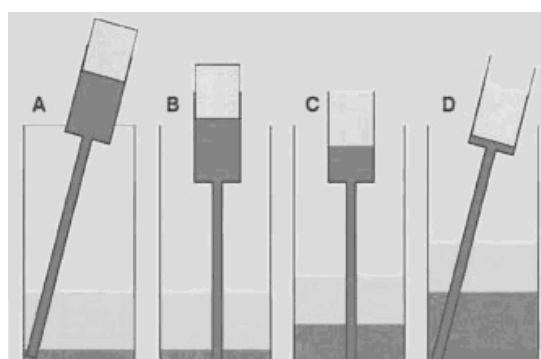


FIGURA 2.4
Ultracentrifugación por gradiente de densidad

2.2.5 MÉTODOS ENZIMÁTICOS

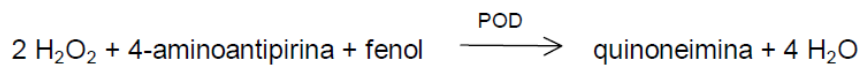
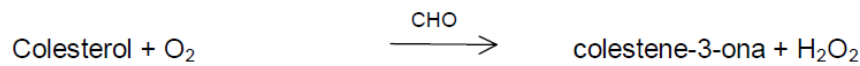
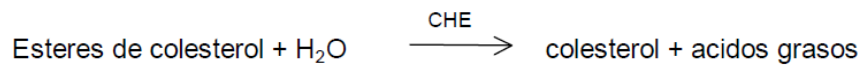
- CHOD-POD ENZIMÁTICO EN UNA SOLA ETAPA

Durante años el colesterol sérico se ha medido por los métodos que emplean la reacción de Liebermann-Burchard, el cual actualmente se encuentra en desuso principalmente por el tipo de reactivos que utiliza que han resultado dañinos y peligrosos, no obstante desde que se comenzaron a utilizar los métodos enzimáticos, su uso se ha incrementado tanto, que se les ha considerado como un método de rutina.

Este método consiste en un Kit comercial disponible por varias marcas, el cual permite la cuantificación del colesterol mediante el uso de enzimas.

FUNDAMENTO: El Colesterol es oxidado enzimáticamente por la colesterol oxidasa (CHOD), previa hidrólisis enzimática de los ésteres mediante una lipasa de origen fungal. El Agua oxigenada (H_2O_2) generada en la oxidación permite la unión oxidativa del fenol con la 4-aminoantipirina (o 4-aminofenazona) mediante una reacción catalizada por la peroxidasa (POD). El indicador final es la quinoneimina (de tonalidad rosada) que puede ser medido a $500-525 \text{ nm}$ con un filtro amarillo-verde.

En este método, las reacciones que se llevan a cabo son las siguientes:



Como muestra se utiliza: Suero ó Plasma Heparinizado o con EDTA.

El test es lineal hasta concentraciones de colesterol de 600 mg/dl. A concentraciones superiores, diluir la muestra 1+1 con solución fisiológica. Repetir el ensayo y multiplicar los resultados por 2.

Valores de referencia.

Suero/Plasma: 150-220 mg/dl

En este método se recomienda tener algunas consideraciones generales, como son:

- El reactivo de trabajo puede desarrollar un ligero color rosado que no afecta los resultados siempre que se procese un blanco con cada lote nuevo.
- Deshechar cuando las lecturas del blanco sean superiores a 0,160 D.O. ó los del estándar sean anormalmente bajos.
- El test no es influenciado por valores de hemoglobina hasta 200 mg/dl y de Bilirrubina hasta 5 mg/dl.
- Es importante controlar el Agua destilada, pues pueden tener agentes oxidantes que aumenten el color de la reacción.
- Es necesario que se incube por 5 minutos a 37° C, debido a que el tiempo y la temperatura es vital para que se desarrollen el total de las reacciones acopladas por las 2 enzimas (CHOD y POD).

2.2.6 MÉTODOS INMUNOQUÍMICOS

Hoy en día los métodos inmunoquímicos se han ampliado y apreciado en el laboratorio clínico por su sensibilidad, especificidad y calidad. Las principales técnicas para valorar y cuantificar a las Lp son:

- Radioinmunoensayo (RIA)
- Inmunoenzimáticas (ELISA)
- Inmunodifusión radial (RID)
- Electroinmunodifusión (EID)
- Inmunoturbidimetría (ITA)

Estos métodos no están libres de la crítica. El problema principal de las Lp es que no están presentes en el suero en forma aislada, sino como grandes partículas químicamente heterogéneas. Esto provoca respuesta variable, a veces significativa, dependiendo de las características de las muestras (normolipemia o hiperlipemia) del anticuerpo empleado, así como también del material de calibración.

Al emplear un anticuerpo en la identificación de una proteína específica (en este caso las APO) se permite una medición más exacta aunque se encuentre en un medio que contenga otras proteínas sin la necesidad de una separación o purificación preliminar. La especificidad del anticuerpo dirigido hacia la apolipoproteína depende notablemente del inmunógeno empleado o de la apolipoproteína purificada o no. El rápido desarrollo de varios métodos de inmunoensayo ha generado un gran número de datos y de observaciones, aunque algunos discordantes por la naturaleza y reactividad de los calibradores empleados. Desafortunadamente, en la actualidad los laboratorios clínicos carecen de un método más simple, no inmunoquímico, con el fin de establecer adecuadamente la estabilidad de la concentración plasmática de Lp, con el cual puedan ser frecuentemente referidos los resultados obtenidos. Sin embargo, el tiempo y el trabajo exigidos por este tipo de técnicas las hacen inadecuadas para el trabajo de rutina en los laboratorios clínicos y para los estudios epidemiológicos.

El suero y el plasma son muestras aceptables para la medición de apolipoproteínas, aunque se debe mencionar que algunas de estas técnicas deben ir precedidas de un pre-tratamiento, el cual puede consistir generalmente en:

- Delipidación: Las muestras de suero para la determinación de apo A-1 o apo B suelen tratarse con un detergente (surfactantes o emulsificantes) o con lipasa, para lograr que todos los sitios antigénicos queden expuestos.
- Dilución: Cuando se emplean equipos comerciales para el análisis de A-1 o apo B, las muestras de suero deben diluirse con el diluyente proporcionado por el fabricante para obtener una exposición completa del antígeno.

En la tabla 2.2 se han colocado de manera comparativa algunos de los requisitos generales utilizados en el empleo de las diferentes técnicas inmunoquímicas tomando como ejemplo la medición de la apolipoproteína B.

En relación a la precisión analítica del inmunoensayo, es inferior respecto a otras técnicas, el coeficiente de variación (% CV) generalmente está arriba del 2% para los resultados obtenidos en una misma corrida y se incrementa del 7-8% en aquellos que son procesados en diferentes corridas. La imprecisión se debe no sólo a los reactivos (anticuerpos policlonales), los cuales muestran diferente avidéz, especificidad y afinidad hacia el antígeno, sino también a la predilección de la muestra y al procedimiento analítico por sí mismo. También se deben considerar los errores de la fase analítica. Aun así, éstos métodos son utilizados tanto en el laboratorio clínico como en varias ramas de la investigación.

■ TABLA 2.2 Resumen de métodos inmunoquímicos para la valoración de lipoproteínas A.

Número de serie	Método	Estándar	Intervalo de referencia valor medio \pm s (g/L)	CV (%)	Pretratamiento de la muestra
1	Radioinmunoanálisis	Apo A-I purificada	M 1,13 \pm 0,06 F 1,24 \pm 0,07		Delipidación
2		Apo A-I purificada	M 1,00 \pm 0,35 F 1,04 \pm 0,35	8	Dilución, delipidación
3		Apo A-I purificada	1,21 \pm 0,16	3,0-5,0	Ninguno
4		Apo A-I purificada	M 1,30 \pm 0,20 F 1,49 \pm 0,30	5	Dilución, tratada
5		Apo A-I purificada	M 1,29 \pm 0,34 F 1,54 \pm 0,29	-	Ninguno
6		Estándar secundario de plasma	1,18 \pm 0,05	9	Dodecilsulfato
7	RIA en fase sólida*	Apo A-I purificada	1,33 \pm 0,32	4	Tween 20
8	Electroinmunoanálisis	Apo A-I purificada	M 1,43 \pm 0,24 F 1,46 \pm 0,78	7	Dilución
9		Apo A-I purificada	M 1,05 \pm 0,19 F 1,11 \pm 0,14		Dilución, urea 6 M
10		Plasma humano normal	M 1,29 \pm 0,25 F 1,56 \pm 0,33	7	TMU
11		Apo A-I purificada	M 1,13 \pm 0,09 F 1,25 \pm 0,17		TMU
12		Suero de referencia	M 1,66 \pm 0,29	5,7	Dilución
13		Apo A-I purificada	M 1,22 \pm 0,27 F 1,49 \pm 0,20	7,7	Urea
14		Apo A-I purificada	1,38 \pm 0,12	2,7	Pretinción
15	Inmunodifusión radial	Apo A-I purificada	M 1,19 \pm 0,19 F 1,35 \pm 0,26	6,3-9,8	TMU
16		HDL ₂ (d 1,16-1,21)	M 1,20 \pm 0,20 [†] F 1,35 \pm 0,25	4-6	La delipidación no ejerce ningún efecto
17		Apo A-I purificada	1,37 \pm 0,23	-	Dilución, calor
18		Suero de referencia			Detergente
19	Ensayo inmunofelométrico	Apo A-I purificada	M 1,39 \pm 0,15 F 1,47 \pm 0,24	7	Dilución, guanidina, HCl
20		Suero de referencia	1,27 \pm 0,28	6,3	Dilución, calor
21		Estándar secundario de plasma humano	M 1,25 \pm 0,22 F 1,40 \pm 0,26	6,9	Dilución, Tween 20
22		Suero de referencia	-	3,7-7,1	Sin información
23		Suero calibrado	1,34 \pm 0,09	-	Dilución con hidroxipolietoxidodecano

CV, coeficiente de variación; d, densidad (g/mL); F, sexo femenino; M, sexo masculino; s, desviación estándar; TMU, tetrametilurea.

* Anticuerpo de superficie contra apo A-I purificada usado en este ensayo.

† Los valores representan apolipoproteínas A.

(Fuente: Priesce, J. Amadeo: Quím. Clín. Métodos)

2.3 VALORES DE REFERENCIA DE LIPOPROTEÍNAS

El Tercer Reporte del Panel de Expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) sobre la Detección, Evaluación, y Tratamiento del Colesterol Sanguíneo Elevado en Adultos (ATP III - Adult Treatment Panel III) publicada en el año 2001 determina la nueva clasificación de niveles séricos deseables de Lp para la población adulta, éstos valores se encuentran representados en la Tabla 2.3.

■ TABLA 2.3 Valores de referencia de Lipoproteínas

Tipo de Lípido	Nivel sérico (mg/dl)	
Colesterol Total	<200	Deseable
	200-239	Limite alto
	>240	Alto
LDL	< 100	Óptimo
	100-129	Limite bajo
	130-159	Limite alto
	160-189	Alto
	>190	Muy alto
HDL	<40	Bajo
	>60	Alto
Triglicéridos	<150	Normal
	150-199	Levemente elevados
	200-499	Elevados
	>500	Muy elevados
VLDL	2 - 38 mg/dL	Normal

(Fuente: Pasternak RC: Report of the Adult Treatment Panel III: the 2001 National Cholesterol Education Program guidelines on the detection, evaluation and treatment of elevated cholesterol in adults. *Cardiol Clin.* 2003;21(3):393-398.)

Capítulo
3

• **SISTEMA
CARDIOVASCULAR**

3.1 GENERALIDADES

El sistema cardiovascular comprende esencialmente:

- Un órgano central de impulsión, el corazón.
- Un conjunto de conductos, de estructura y propiedades diferentes: las arterias, las venas, los vasos capilares y los vasos linfáticos.

El corazón es un músculo hueco, situado en el tórax, que circunscribe cavidades en las cuales circula la sangre. Está formado por un músculo con propiedades particulares, el miocardio, tapizado interiormente por el endocardio y exteriormente por el epicardio. El corazón está rodeado por el pericardio, conjunto fibroso que lo separa de los órganos vecinos.

El corazón, las arterias y la sangre están íntimamente relacionados; juntos forman el sistema circulatorio, el cual es el sistema que hace que la sangre circule por todo el organismo, descubierto en el siglo XVII por el físico inglés William Harvey, comparándose con una intrincada red de canales de riego, impulsados por una poderosa bomba: el corazón.

El corazón es una bomba que de forma rítmica se contrae y se relaja. Es la bomba encargada de que circule el oxígeno, el agua y los nutrientes a través del torrente sanguíneo para su distribución a todos los tejidos del organismo. El corazón efectúa aproximadamente unos 70 latidos cada minuto en reposo³¹.

El corazón está compuesto por dos mitades diferenciadas, por lo cual se describen un “corazón derecho” y un “corazón izquierdo”. En cada una de estas mitades hay dos cavidades: una aurícula (atrio) y un ventrículo. Mientras que el corazón derecho y el corazón izquierdo están separados por un tabique, cada una de las aurículas comunica con el ventrículo correspondiente por un orificio provisto de válvulas que aseguran, en cada mitad del corazón, una circulación sanguínea en sentido único. A las aurículas llegan las venas, de los ventrículos parten las arterias.

En realidad el corazón es una bomba doble, en la que cada parte es completamente distinta de la otra. En el corte transversal del corazón (Véase Figura 3.1) se pueden apreciar cuatro cavidades. Las dos cavidades del lado derecho reciben la sangre que proviene de todas y cada una de las partes del organismo a través de una vena muy importante, la vena cava. Esta sangre entra en la cavidad superior denominada, aurícula derecha; de aquí pasa a la cavidad inferior, el ventrículo derecho, desde donde es bombeada a través de la arteria pulmonar a los pulmones, lugar en el que se intercambia el dióxido de carbono por oxígeno fresco.

Esta sangre limpia, preparada para distribuir el oxígeno por todos los tejidos, regresa a la parte izquierda del corazón, se introduce en la cavidad superior, la aurícula izquierda, a continuación desciende, a través de una válvula, al ventrículo izquierdo, desde donde se bombea sangre hacia la

³¹ Latarjet, M. – Ruiz, L. (2005): *Anatomía Humana*. 4a Edición. Tomo 1. Ed. Médica Panamericana S.A., Argentina.

aorta, que es una gran arteria que se va subdividiendo en otras arterias, cada vez más pequeñas, a lo largo de todo el organismo. El lado izquierdo del corazón está completamente separado del derecho.

3.1.1 EL CORAZÓN COMO PARTE INTEGRANTE DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR

El corazón está conectado a los pulmones por vasos sanguíneos mayores, lo cual posibilita un intercambio continuo de oxígeno, y hace que sea posible la eliminación del dióxido de carbono, derivado de la producción de energía por el organismo. Los vasos sanguíneos, desde los principales hasta los más pequeños, llegan a todos los tejidos del cuerpo humano. Los vasos que transportan sangre rica en oxígeno a las diversas partes del organismo reciben el nombre de arterias. Cuando las arterias se hacen muy pequeñas se llaman capilares, un nombre que se deriva del latín capillus que significa «cabello», dado que los capilares son como finos cabellos humanos. Los vasos sanguíneos que sirven para conducir la sangre de los tejidos a los pulmones se llaman venas. Las paredes de las arterias y de las venas están constituidas por un revestimiento interior, una capa de fibra muscular lisa y elástica y otra capa exterior. Pero dado que las arterias han de soportar toda la presión del bombeo del corazón, tienen una capa de músculo más gruesa, lo cual las hace más fuertes que a las venas.

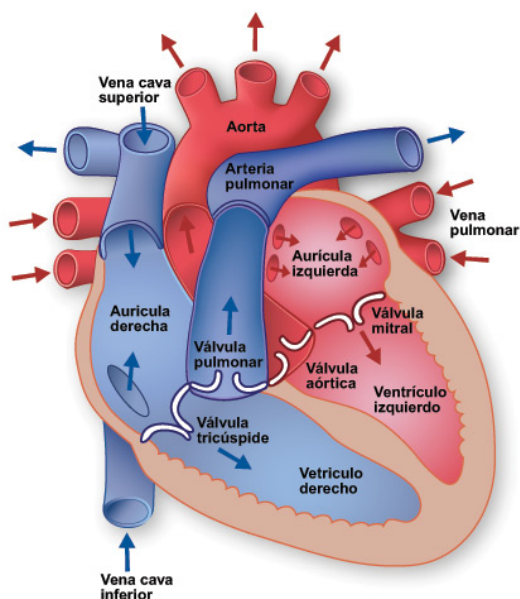
El corazón se halla irrigado por arterias provenientes de la aorta: las arterias coronarias. Sus venas desembocan directamente en la aurícula derecha sin pasar por las venas cavas: el seno coronario y las pequeñas venas del corazón.

- LAS ARTERIAS CORONARIAS

Las arterias que forman una corona sobre el musculo del corazón proporcionan oxígeno y nutrientes a este órgano. Debido a esta estructura característica de corona que adoptan estas arterias han recibido el nombre de coronarias. Estas arterias son el único medio que tiene el corazón para recibir el suministro que necesita para mantenerse vivo.

- LAS VÁLVULAS CARDIACAS

En el corazón hay cuatro válvulas, las cuales impiden que el flujo sanguíneo retroceda después de la contracción de las cavidades, y posibilitan que la sangre se dirija hacia los ventrículos, las arterias pulmonares y la aorta. Estas válvulas son: la válvula tricúspide, la válvula pulmonar, la válvula mitral y la válvula aórtica, en la Figura 3.1 se puede apreciar su localización.



● FIGURA 3.1 Arterias, venas y válvulas cardiacas.

Fuente: http://www.texasheartinstitute.org/HIC/anatomy_Esp/anato_sp.cfm

3.1.2 EL SISTEMA ELECTRICO

Todo el bombeo del corazón está controlado por un sistema eléctrico muy preciso. El corazón es, explicándolo de forma sencilla, una bomba formada por tejido muscular. Como cualquier bomba, el corazón necesita una fuente de energía para poder funcionar. La energía de bombeo del corazón proviene de un sistema intrínseco de conducción eléctrica.

Para que el corazón pueda latir se requiere de un impulso eléctrico, el cual se genera en el nódulo sinoauricular (también llamado nódulo sinoatrial o nódulo SA), que es una pequeña masa de tejido especializado localizada en el atrio derecho (la cavidad superior derecha) del corazón. El nódulo sinoauricular genera periódicamente un impulso eléctrico (de 60 a 100 veces por minuto en condiciones normales). Ese estímulo eléctrico viaja a través de las vías de conducción (de forma parecida a como viaja la corriente eléctrica por los cables desde la central eléctrica hasta nuestras casas) y hace que las cavidades del corazón se contraigan y bombeen la sangre hacia fuera. Los atrios derecho e izquierdo (las 2 cavidades superiores del corazón) son estimulados en primer lugar, y se contraen durante un breve período de tiempo antes de que lo hagan los ventrículos derecho e izquierdo (las 2 cavidades inferiores del corazón). El impulso eléctrico viaja desde el nódulo sinoauricular hasta el nódulo atrioventricular (nódulo AV), y estimula al ventrículo haciendo que se contraiga, forzando ahora a que la sangre se dirija hacia las arterias pulmonares. Casi de forma simultánea la aurícula izquierda y posteriormente el ventrículo izquierdo se contrae, haciendo que la sangre oxigenada se dirija hacia las arterias por las cuales circulará por todo el organismo.

En condiciones normales, mientras el impulso eléctrico se mueve por el corazón, éste se contrae entre 60 y 100 veces por minuto. Cada contracción representa un latido. Los atrios se contraen una fracción de segundo antes que los ventrículos para que la sangre que contienen se vacíe en los ventrículos antes de que éstos se contraigan.

Como podrá deducirse, si la señal eléctrica falla, esto afectará a todo el sistema de bombeo de sangre y oxígeno.

3.1.3 PRESION ARTERIAL

La función celular se realiza en forma constante, por lo cual es necesario un continuo aporte de nutrientes y un constante drenaje de metabolitos celulares. Para que esto sea posible, se necesita un flujo sanguíneo que asegure una adecuada perfusión tisular. Para poder manejar este fluido sanguíneo se requiere de una fuerza capaz de vencer la resistencia a la circulación. Dicha fuerza es producto de la actividad cíclica del corazón, que determina una presión denominada, presión arterial. A su vez, esta presión es imprescindible para que circule la sangre por los vasos sanguíneos y aporte el oxígeno y los nutrientes a todos los órganos del cuerpo para que puedan funcionar .

Entonces, se entiende por presión arterial a la fuerza que ejerce la sangre sobre la superficie interna de las arterias, lo que determina a su vez una tensión en la pared respectiva. La presión arterial ejerce una fuerza de distensión que empuja la pared del vaso hacia fuera, y es contrarrestada por una fuerza de contención que corresponde, precisamente, a la tensión de la pared del vaso. Cuando dichas fuerzas, distensión y contención, se equilibran, el radio del vaso considerado permanece constante.

La presión arterial se controla principalmente a través de la contracción y relajación del músculo del corazón, de la forma y el tamaño de las arterias y de un funcionamiento adecuado del riñón. Así mismo, la causa más importante de que la presión arterial sea elevada es el estrechamiento de muchos miles de pequeñas arterias, denominadas arteriolas.

La presión arterial se expresa normalmente en milímetros de mercurio (mmHg) sobre la presión atmosférica. Los valores normales de presión arterial varían entre 90/60 y 120/80 mmHg. Valores por encima de 130/90 mm de mercurio son indicativos de hipertensión o presión arterial alta y por debajo de 90/60 son indicativos de hipotensión o presión arterial baja³².

3.2 LOS LÍPIDOS EN LA FUNCIÓN VASCULAR

La sangre lleva muchas sustancias químicas necesarias para el organismo, entre ellas las diferentes clases de lípidos, vitaminas, minerales, hormonas, proteínas, etc.; que el cuerpo necesita para su correcto funcionamiento. Entre algunas de sus funciones están: ser componente de las membranas celulares y ser precursores de sustancias tan importantes como las prostaglandinas, la vitamina D, las hormonas esteroideas y los ácidos biliares.

Pero, así como la sangre realiza funciones útiles y necesarias, también puede causar daños, especialmente en las paredes de las arterias, al transportar otros componentes no tan benéficos.

3.3 COLESTEROL Y ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

El colesterol al igual que no es la única sustancia en la sangre, tampoco es la única sustancia «problemática». Ni siquiera es exclusiva de la sangre. El colesterol es un componente natural de los aceites y grasas animales, de sus nervios, bilis, sangre y yema de huevo. En la sangre es tan solo una de las muchas sustancias que el organismo necesita de manera esencial. De modo que debemos considerarlo fundamentalmente «bueno» y no «malo».

³² Tortora, G. – Grabowski, R. (2006): *Principios de anatomía y fisiología*. 9a Edición. Ed. Oxford University Press, México.

Lo que lo diferencia son el tipo de Lp en que es transportado en el organismo: el que es transportado por las partículas de lipoproteínas de baja densidad LDL en la circulación, se asocia con mayor riesgo de aterosclerosis, y se suele denominar colesterol «malo». Al contrario, el colesterol transportado por las partículas de lipoproteínas de alta densidad HDL en la circulación se asocia con menor riesgo de aterosclerosis, y se suele denominar colesterol «bueno».

Si el colesterol es bueno o malo para el organismo, es una cuestión que los médicos y científicos llevan discutiendo desde el siglo XIX y que sigue sin estar concluida. Pues constantemente se llevan a cabo estudios que cambian la discusión hacia una u otra dirección.

El organismo produce todo el colesterol que necesita. Si la dieta contiene demasiado colesterol adicional, los niveles de esta sustancia en sangre aumentarán, lo cual contribuirá a aumentar el riesgo de padecer alguna cardiopatía.

Con el término «cardiopatía» se alude a un grupo de enfermedades del corazón y de las arterias que están integradas en el grupo patológico más amplio de las denominadas enfermedades cardiovasculares (cardio=corazón, vascular=relativo a los vasos sanguíneos). Más del 90% de las cardiopatías tienen su origen en un problema subyacente, como el estrechamiento de las arterias debido al colesterol y al tejido fibroso, un proceso conocido como aterosclerosis.

Casi todas las cardiopatías diagnosticadas son en realidad enfermedades arteriales³³, en las que los vasos sanguíneos se obstruyen, impidiendo que el oxígeno necesario, que se transporta a través del torrente sanguíneo, llegue al corazón. De ello pueden resultar múltiples efectos secundarios: infarto agudo de miocardio, insuficiencia congestiva cardíaca, apoplejía, arritmias cardíacas, hipertensión arterial (anteriormente descrita) y angina de pecho. En la actualidad, esta obstrucción de las arterias (aterosclerosis) puede mejorar utilizando las técnicas médicas modernas y también cambiando el estilo de vida. De manera muy breve se pueden definir de la siguiente forma:

- **INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO:** Conocido en el lenguaje coloquial como ataque al corazón, infarto ó paro cardíaco, hace referencia a un riego sanguíneo insuficiente, con daño tisular, en una parte del corazón; producido por una obstrucción en una de las arterias coronarias, frecuentemente por ruptura de una placa de ateroma vulnerable. La isquemia o suministro deficiente de oxígeno que resulta de tal obstrucción produce la angina de pecho, que si se recanaliza precozmente no produce muerte del tejido cardíaco, mientras que si se mantiene se produce la lesión del miocardio y finalmente la necrosis, es decir, el infarto.
- **INSUFICIENCIA CONGESTIVA CARDIACA:** Es el resultado de dañado al músculo cardíaco. Este daño puede ser causado por cosas tales como un paro cardíaco, alta presión arterial, defectos cardíacos congénitos, o aterosclerosis. Esto debilita la capacidad del corazón en mantener la circulación sanguínea corporal. A medida que esta sangre circula más lentamente, la sangre que regresa al corazón retrocede en las venas, provocando congestión en los tejidos
- **APOPLEJÍA (o accidente vascular cerebral):** Es la lesión que sufre una parte del cerebro cuando disminuye o cesa súbitamente su riego sanguíneo, lo cual puede suceder cuando una

³³ Farquhar, J. Enfermedades cardíacas, Ediciones Paidós Ibérica, España, 2001.

arteria del cerebro se obstruye o se rompe y una parte del cerebro queda privada de sangre, por lo tanto muere y no puede seguir funcionando. Factores como; enfermedad cardíaca, colesterol elevado y aterosclerosis aumentan el riesgo de una apoplejía.

- **ARRITMIAS CARDÍACAS:** Falla en los impulsos eléctricos del corazón.
- **ANGINA DE PECHO:** Es un síntoma de la enfermedad de las arterias coronarias y se presenta en forma de dolor o molestia en el pecho que se siente cuando el músculo cardíaco no recibe suficiente irrigación sanguínea y por tanto falta de oxígeno. Puede parecer una presión o un dolor opresivo en el pecho
- **ATEROSCLEROSIS:** Enfermedad de la pared de los vasos arteriales, consistente en un engrosamiento y dureza anormal de las cubiertas internas, debido a un depósito de material graso disminuyendo el diámetro del vaso arterial e incluso obstruyéndolo.

3.4 ÍNDICE ATEROGÉNICO

Derivado del estudio de Framingham, se ha encontrado una correlación de gran poder predictivo entre las diversas clases de colesterol, así, basándose en observaciones clínicas se ha logrado establecer con esto un mecanismo etiopatogénico plausible, llamado “índice aterogénico”.

Utilizando los valores obtenidos en el análisis de lípidos por el laboratorio, se puede establecer el riesgo que existe de formación de un ateroma que pudiera obstruir una arteria coronaria. Por tanto, este valor surge de la relación entre las distintas fracciones de colesterol y triglicéridos.

En general, se pueden establecer tres tipos de riesgo aterogénico:

- **Riesgo aterogénico I:** Este valor surge de la relación entre los valores de colesterol LDL/colesterol HDL. Su valor de referencia debe ser menor a 3.
- **Riesgo aterogénico II:** Este valor surge de la relación entre los valores de colesterol total/colesterol HDL. Su valor de referencia debe ser menor a 5, para considerarlo favorable.
- **Riesgo aterogénico III:** Este valor surge de la relación entre los valores de colesterol total/triglicéridos. Su valor de referencia debe ser entre 0.95 y 1.30.

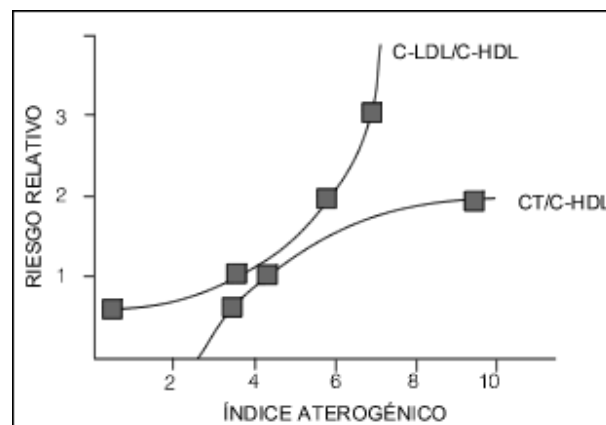
Resultados por encima de estos valores de referencia indican la necesidad de poner en marcha una serie de medidas para tratar de reducir aquellos valores lípidos que se encuentran elevados.

La combinación de C-LDL alto y C-HDL bajo aumenta considerablemente el riesgo, mientras que la situación inversa (C-LDL bajo y C-HDL alto) lo disminuye. Como ambas lipoproteínas tienen significado predictivo, la relación entre uno y otro es de gran utilidad para la estratificación del riesgo.

Se puede utilizar la relación entre el CT y el C-HDL o entre el C-LDL y el C-HDL. El cociente o índice aterogénico (CT/C-HDL o C-LDL/C-HDL) tiene un valor más alto mientras más grande sea la concentración de la partícula aterogénica (CT o C-LDL) y menor sea la concentración de la lipoproteína protectora (C-HDL).

En la figura 3.2, tomada de los datos de Framingham (Kanell WB, et al.,1987) se muestra que el cociente C-LDL/C-HDL tiene mayor poder predictivo que el índice CT/C-HDL. Los índices aterogénicos bajos (menos de 4) se asocian, en general, a un buen pronóstico. Los índices aterogénicos mayores de 6 se acompañan de riesgo elevado de sufrir un evento coronario.

• FIGURA 3.2 Índice aterogénico



Fuente: Kanell WB, et al., (1987).

Capítulo

4

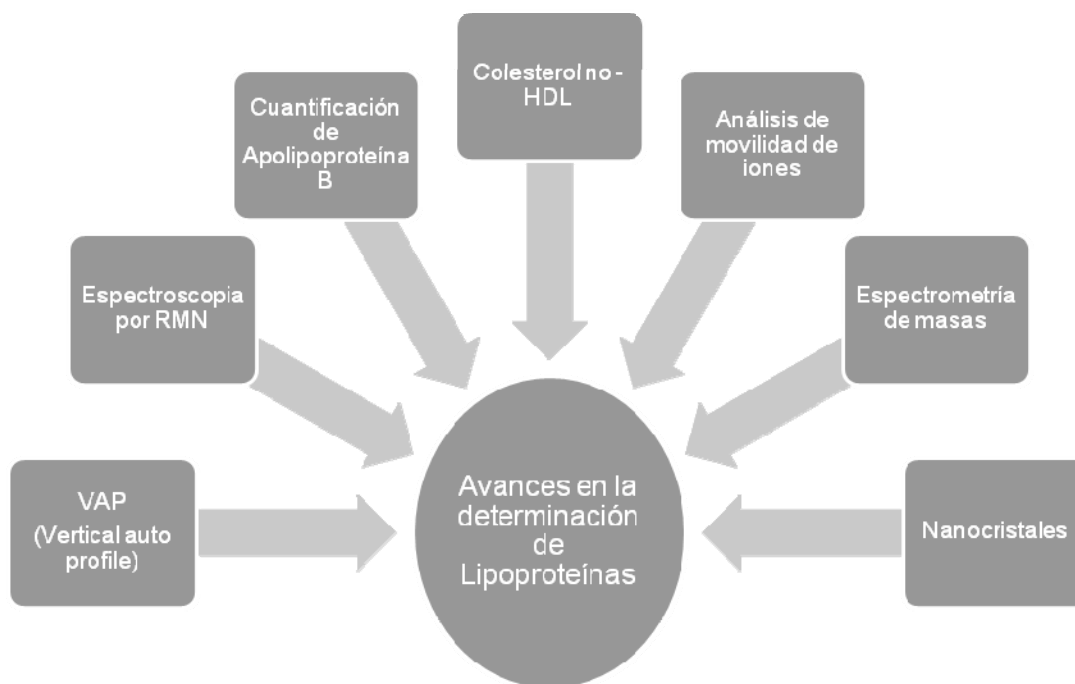
- **AVANCES EN EL ANÁLISIS DE LIPOPROTEÍNAS**

PRINCIPALES AVANCES EN LA DETERMINACION DE LIPOPROTEINAS

El campo de la salud está constantemente en desarrollo; los adelantos científicos y tecnológicos son interminables, a todo nivel. El gran desarrollo de las técnicas diagnósticas hace más necesario recalcar su importancia, porque la decisión final del cardiólogo debe ser consecuencia de la integración de toda la información recibida a través tanto de la clínica como de las técnicas diagnósticas realizadas por el laboratorio.

La cuantificación de las Lp en el diagnóstico clínico es una técnica ampliamente utilizada en sus formas tradicionales, pero muchas veces no son suficientes para cumplir este objetivo, y se requiere la ayuda de métodos diagnósticos más avanzados. A continuación, en la Figura 4.1 se presentan de manera ilustrativa, los principales avances en relación a técnicas para el análisis de lipoproteínas.

_____ • FIGURA 4.1 Determinaciones innovadoras disponibles para la cuantificación de lipoproteínas.



1. COLESTEROL no-HDL

El colesterol no-HDL se deduce del perfil lipídico e incluye: IDL + VLDL + Apo a + LDL. Y ha sido propuesto por el National Cholesterol Education Program (NCEP)^{34,35} como 2° objetivo en pacientes dislipémicos con valores de TG iguales o superiores a 200 mg/dL y/o en pacientes que no se encuentran en situación de ayunas al momento de la toma de muestra (hay que tomar en cuenta que diversos estudios han mostrado que el valor del CT y de HDL no está alterado por la ingesta de alimentos) y siendo su nivel esperado no mayor a 30 mg/dL en función de la estratificación del riesgo calculada previamente según el Framingham Study.

2. APO B

Las APO son cuantificadas de manera rutinaria en algunos laboratorios clínicos con el uso de ensayos inmunonefélométricos o inmunoturbidimétricos y una gran variedad de estudios científicos recientes han demostrado que esta apolipoproteína puede ser un marcador más efectivo de riesgo CV que las LDL, inclusive ya existen múltiples técnicas bioquímicas estandarizadas para medir Apo B, pero desde el año 1994, la OMS y la *International Federation for Clinical Chemistry* en conjunto con el *Center for Disease Control and Prevention* desarrollaron una referencia estándar internacional (la SP3-07) que reduce el coeficiente de variación de los análisis a menos de 5%.³⁶

Se ha logrado encontrar una correlación entre los valores de Apo B y los de LDL esperados, la Tabla 4.1 muestra esta relación que en la actualidad ha servido como referencia en diversos estudios:

▪ TABLA 4.1 Correlación entre valores de Apo B y LDL

Cantidad de Apo B	Cantidad de LDL esperada
Inferior a 65 mg/dL	Inferior a 70 mg/dL
Inferior a 85 mg/dL	Inferior a 100 mg/dL
Inferior a 105 mg/dL	Inferior a 130 mg/dL
Inferior a 125 mg/dL	Inferior a 160 mg/dL

Fuente: Mora S, Szklo M, Otvos JD, et al: LDL particle subclasses, LDL particle size, and carotid atherosclerosis in the Multi Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* 2007; 192:211-217.

La APO B refleja el número de potencial aterogénico de las partículas de Lp debido a que cada partícula de VLDL, β -VLDL, IDL, LDL y Lp (a) contienen en sus superficie una de estas proteínas Apo B

³⁴ Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults: Executive summary of the Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP). Adult Treatment Panel III. *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.

³⁵ Grundy SM, Cleeman JI, et al: Implications of recent trials for the National Cholesterol Education Program ATP III guidelines. *Am Coll Cardiol* 2004; 44:720-732.

³⁶ Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, et al: International Federation for Clinical Chemistry standardization Project for measurements of Apolipoproteins A1 and B. IV Comparability of apolipoprotein B values by use of international reference material. *Clin Chem* 1994; 40: 586-592.

(100). En la mayoría de los plasmas la apoB se encuentra en las partículas de LDL³⁷. Inclusive algunos autores han dicho que el radio de estas APO puede ser un nuevo marcador de riesgo cardiovascular.³⁸

Las partículas de HDL con contienen apoB pero en su lugar poseen apoA-1, de cualquier modo, la apoA-1 no corresponde de una forma directa a las concentración de HDL de modo 1:1, como la apoB100 y las LDL, porque una partícula de HLD puede contener más de una proteína apoA-1.

Fuera de los estándares de lípidos, la apoB es el componente de las Lp estudiado más extensamente en la prevención primaria y secundaria para la población. La mayoría de estos estudios, aunque no todos, encontraron que la apoB está más estrechamente asociada con el riesgo cardiovascular que el colesterol LDL, y se resume en algunos otros estudios más³⁹. Del mismo modo, aunque en una menor cantidad de estudios que los del apoB, se ha dicho que el riesgo CV está más estrechamente relacionado con la concentración de partículas LDL obtenidas por RMN que el colesterol LDL.⁴⁰

Valores elevados de ApoB (> 120 mg / dL) pueden significar de dos a tres veces mayor riesgo de ECV incluso cuando el colesterol-LDL se encuentre dentro del intervalo normal. Varias décadas de la literatura científica apoyan a la determinación de apoB como la indicación más precisa de la cantidad de partículas aterogénicas, por lo cual los avances al respecto siguen siendo de suma importancia.

3. PRUEBA VAP (VERTICAL AUTO PROFILE)

La compañía Aterotech[®] Inc. es una empresa de diagnóstico cardiológico que desarrolló y patentó esta prueba llamada VAP[®] (*vertical auto profile*), la cual se ha traducido al español con diferentes nombres: perfil vertical automático, perfil auto vertical o prueba VAP de colesterol.

La VAP[®] es la prueba más completa de evaluación de las lipoproteínas para el manejo del colesterol total / lípidos. La prueba de VAP mide directamente los factores de riesgo asociados con enfermedades del corazón, proporcionando información más precisa que la prueba de los lípidos de rutina, puesto que calcula los valores de LDL. Además, la prueba de VAP mide directamente algunos factores de riesgo, considerados actualmente como independientes. Reportando 15 componentes del colesterol de la sangre, de forma separada, en comparación con los cuatro tradicionales, logrando con esto identificar un gran número de anomalías lipídicas (Factor de riesgo #1 de enfermedades del corazón) e identificar marcadores de síndrome metabólico.

La tecnología VAP consta de una ultracentrifugación en gradiente de densidad patentada que mide directamente el contenido de colesterol de todos los lípidos, sus componentes y sus subclases. La prueba de VAP es el primer perfil de colesterol en cumplir con las recomendaciones actuales del

³⁷ Walldius G, Jungner I: The apoB/apoA ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy: a review of the evidence. J Intern Med. 2006; 259: 493-519.

³⁸ *Ibidem*.

³⁹ Sniderman AD, Furbeg CD, et al: Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and as targets for statin treatment. Lancet. 2003; 361:777-780.

⁴⁰ Cromwell WC, Otvos J, et al: LDL particle numbers and risk for future cardiovascular disease in the Framingham Offspring Study: implications for LDL management. J Clin. Lipidol. 2007; 1:583-592.

National Cholesterol Education Program ATP III⁴¹ las cuales llamaban a realizar análisis más precisos; la cuantificación directa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) la cual, no se ve afectada por los niveles de triglicéridos.

El sistema patentado VAP © es una prueba única y completa para todas las clases y subclases de lipoproteínas, y consta de los siguientes tres pasos secuenciales:

- 1) La separación de las clases de lipoproteínas y sus subclases de acuerdo a su densidad, utilizando ultracentrifugación de giro vertical por gradiente de densidad.
- 2) El análisis de colesterol enzimático continuo de las lipoproteínas separadas utilizando el analizador VAP.
- 3) La cuantificación de las clases y subclases de lipoproteínas en función de su concentración de colesterol por deconvolución del perfil de colesterol total obtenido en el paso 2, utilizando el software propietario.

Así, la prueba VAP © proporciona una medición directa de las concentraciones de colesterol unido a las lipoproteínas de todas las clases principales [HDL, LDL, VLDL, IDL, y la Lp (a)] y sus subclases importantes; como son HDL2, HDL3 y LDL1 - LDL4. Además, la prueba VAP © también proporciona un patrón de las subclases LDL (A, A / B o B) y del colesterol de las lipoproteínas remanentes. Permite las mediciones de las diferentes lipoproteínas y el correspondiente porcentaje en sus subfracciones. Se puede resumir de la siguiente manera: Col no-HDL; Col LDL (incluyendo sus 4 subfracciones); lipoproteína (a) y Col IDL, permitiendo deducir además valores de Col LDL "real", LDL pequeñas y densas, y Apo B.

Los valores objetivos de LDL Col y Col no-HDL son los mismos que los planteados por el NCEP ATP III⁴², permitiendo identificar, definir y cuantificar dislipidemia aterogénica en pacientes con hipertrigliceridemia y en aquellos que no se encontraban en ayunas.

Esta prueba ha sido utilizada en más de 100 estudios de investigación y ensayos clínicos de muchas instituciones-hospitales de renombre internacional, así como en diversas organizaciones internacionales y empresas, solo por mencionar algunos ejemplos: AstraZeneca®, Cincinnati Children's Hospital, GlaxoSmithKline®, International Institute for Biomedical Research, Merck®, National Institute of Health, Yale University School of Medicine, Pfizer®, entre muchas otras universidades, laboratorios y hospitales. En la Tabla 4.2 se aprecia de manera resumida los principales parámetros de análisis de esta prueba.

⁴¹ National Heart, Lung, and Blood Institute: Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. 2001 (<http://www.nhlbi.nih.gov>)

⁴² *Ibidem*.

• TABLA 4.2 Análisis que se realizan en la prueba VAP®

Medición directa del panel de colesterol	Valores deseables	Descripción
LDL Total	<130 mg/dL	LDL-R + Lp(a) + IDL
LDL-R (LDL Real)	<100 mg/dL	LDL total menos Lp(a) e IDL
Lp(a)	<10 mg/dL	Más aterogénica que la LDL
IDL	<20 mg/dL	Más aterogénica que la LDL
HDL Total	≥40 mg/dL	HDL ₂ + HDL ₃
HDL ₂	>15 mg/dL	Más optimista, más protectora
HDL ₃	>30 mg/dL	Pequeñas y densas, menos protectoras
VLDL Total	<30 mg/dL	VLDL ₁ + VLDL ₂ + VLDL ₃
VLDL ₁	<20 mg/dL	VLDL optimista, menos riesgo
VLDL ₃	<10 mg/dL	VLDL densa, mas riesgo
Colesterol Total	<200 mg/dL	LDL + HDL + VLDL
Factores de riesgo emergentes y secundarios	Valores deseables	Descripción
Triglicéridos	<150 mg/dL	Relacionados con el incremento de ECV
Colesterol no-HDL	<160 mg/dL	LDL + VLDL
Lipoproteínas remanentes	<30 mg/dL	IDL + VLDL ₃
Lp(a)	<10 mg/dL	Más aterogénica que la LDL
Patrón de densidad de las LDL	A/B	B: más riesgo; A/B riesgo intermedio; A: menos riesgo
Subclases de LDL ₁₋₄ (mg/dL)		LDL ₄₊₃ pequeñas, densas. LDL ₂₊₁ grandes, optimistas.

Apolipoproteínas	Valores deseables	Descripción
Apo B ₁₀₀	<109 mg/dL	Suma de las partículas lipoproteínicas aterogénicas
Apo A ₁	>118 mg/dL	Suma de las partículas lipoproteínicas aterogénicas
Radio de la Apo B ₁₀₀ /A ₁	<0.75	A menor radio menor riesgo

Fuente: www.aterotech.com

4. ESPECTROSCOPIA POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se comenzó a desarrollar hacia 1945 con los primeros trabajos de los físicos Bloch y Purcell, pero se ha convertido rápidamente en un método espectroscópico polivalente e irremplazable en diversos sectores de la química. La RMN permite el estudio de los componentes en disolución o en estado sólido y sirve tanto para análisis cuantitativo como estructural; adquiriendo con esto una gran importancia en la práctica de la bioquímica.

La RMN se surte de los datos obtenidos de la interacción que nace entre dos núcleos de átomos de ciertos elementos presentes en la muestra estudiada y el campo magnético intenso y constante producido por un imán al cual se le somete.

Los espectrómetros de RMN están a menudo localizados en laboratorios de investigación, pero existen otros equipos simplificados basados en el mismo fenómeno para aplicaciones de rutina.

El documento de base suministrado por todos los equipos es el *espectro de RMN*, el cual es un diagrama que representa señales de resonancia; producidas por la utilización de un segundo campo

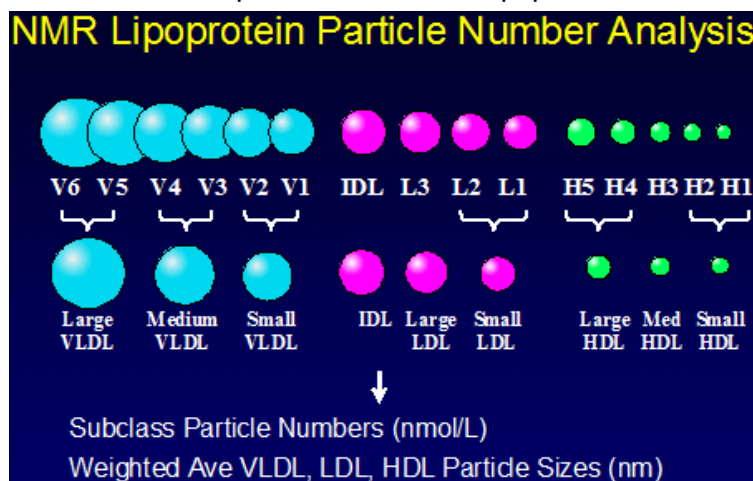
(aproximadamente 10,000 veces más débil que el anterior) utilizando para ello una fuente de radiaciones electromagnéticas en la región de las radiofrecuencias. Así, el espectro de RMN corresponde a la absorción por ciertos átomos de la muestra de ciertas frecuencias presentes en la fuente electromagnética.

En cuestión de Lp, esta técnica se encuentra disponible por LipoScience Inc, Raleigh y NC, y se basa en el concepto de que cada partícula de lipoproteína en el plasma posee su propio tamaño y sus propios característicos grupos metílicos lipídicos que dan señal en RMN. La mayoría de estas pruebas se llevan a cabo en RMN de protones de plasma no fraccionado. En la Figura 4.2 se ilustra los tipos de Lp que se analizan mediante esta técnica.

Las concentraciones de las subpartículas de lipoproteínas de diferentes tamaños son obtenidas de la medición de las amplitudes de de sus grupos metilos lipídicos que dan la señal para la RMN. Los tamaños de las partículas de Lp son entonces derivados de la suma de los diámetros de cada subclase de LP multiplicados por su porcentaje de masa relativa basado en la amplitud de la señal de su metilo y dados en nanómetros. El estudio de RMN LipoProfile-II cuantifica simultáneamente las concentraciones de Lp: VLDL, IDL, LDL y HDL y sus subfracciones, cada una expresada como concentración de partícula de Lp (en número de partículas por litro) o como un promedio del tamaño de las partículas para cada VLDL, LDL y HDL⁴³.

Existen grandes ventajas al poder obtener la estructura de las lipoproteínas por RMN: se determinan en el mismo medio en el cual ejercen su función; se pueden modificar las condiciones con las cuales se obtiene la estructura, como pH, temperatura y fuerza iónica; se pueden determinar cambios conformacionales en presencia de diferentes sustratos, lo cual permite el estudio de diseño de fármacos. El conocimiento de la relación estructura-función de las proteínas permite el avance de las ciencias proteómica y genómica, entre otras.

• FIGURA 4.2 Análisis del tipo de subclases de lipoproteínas analizadas en RMN



Fuente: www.futuremedicine.com

En varios estudios se han hecho pruebas comparativas entre la RMN y algunas técnicas ampliamente utilizadas como la ultracentrifugación, encontrando que las mediciones realizadas con la RMN tienen un alto grado de correlación con los resultados producidos por ultracentrifugación.

⁴³ Jeyarajah EJ, Cromwell WC, et al: Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy. Clin Lab Med. 2006; 26:847-870.

Pero que la RMN podría ser adecuada como un método alternativo para la medición postprandial de Lp ricas en TG en individuos consumidores de dietas altas en lípidos⁴⁴. También es de resaltar que es una técnica relativamente más rápida que la ultracentrifugación y proporciona una mayor cantidad de datos. Así mismo en algunos otros estudios se ha mencionado un ligero mayor rendimiento en comparación con la técnica de electroforesis en gel de gradiente⁴⁵ y una mayor precisión en cuanto a la obtención de los tamaños de las partículas de Lp⁴⁶. Entre sus ventajas se encuentran: El que no haya necesidad de separar primero las lipoproteínas en sus diferentes subclases antes de que se cuantifiquen y que no hay necesidad de reacciones químicas o de utilización de reactivos. Usando la tecnología de RMN, el tiempo para obtener un resultado cuantitativo se acorta de horas o días a sólo unos minutos haciendo un análisis de lipoproteínas eficaz, preciso y actualmente más disponible.

Existe en especial una compañía estadounidense de nombre LipoScience la cual ha aprovechado la eficiencia, la fiabilidad y la precisión de la tecnología de RMN para desarrollar plataformas clínicas de RMN para el laboratorio, además de que también proporciona resultados de laboratorio clínico basados en la tecnología de resonancia magnética nuclear (RMN) para su uso en estudios y publicaciones.

5. ANÁLISIS DE MOVILIDAD IÓNICA

Este es un método desarrollado recientemente (disponible por Quest Diagnostics Inc, Madison, NJ) que mide paralelamente las concentraciones de las diferentes subclases de partículas de Lp y sus tamaños correspondientes sobre la base de su diferencial de movilidad eléctrica en una fase gaseosa⁴⁷. Esta técnica utiliza los principios de la movilidad de iones para proporcionar la medida directa de las partículas y su tamaño de partícula, con base en la velocidad de arrastre de las Lp cargadas de iones a medida que pasan a través de una capa de aire bajo la fuerza de un campo eléctrico. En la Figura 4.3 se encuentra de forma general el funcionamiento de este tipo de análisis.

Es una técnica analítica para separar e identificar las moléculas ionizadas en la fase gaseosa en función de su movilidad iónica en la presencia de un gas separador. Aunque en gran medida empleada para fines militares o de seguridad, tales como la detección de drogas y explosivos, la técnica también tiene muchas aplicaciones en laboratorio de análisis, recientemente se acoplada a espectrometría de masas y cromatografía líquida de alto rendimiento. La Figura 4.4 contiene un equipo convencional de Análisis de movilidad iónica y un ejemplo de los datos obtenidos a partir de esta técnica de análisis.

Existen estudios que describen y validan la capacidad de la técnica de la movilidad directa de iones para cuantificar las partículas de lipoproteínas plasmáticas: HDL, LDL, IDL y VLDL en adultos sanos. Los cuales, mostraron que la técnica es muy precisa en cuanto a la medición del tamaño de las partículas LDL, produciendo una variación de menos del uno por ciento en más de 48 preparaciones de la misma muestra. En relación al HDL y LDL la variación fue menor al 20 por ciento

⁴⁴ Tsai M, Georgopoulos A, et al: Comparison of ultracentrifugation and nuclear magnetic resonance spectroscopy in the quantification of triglyceride-rich lipoproteins after an oral fat load. *Clinical Chemistry* 2004;50:1201-1204.

⁴⁵ Witte DR, Taskinen MR, et al: Study of agreement between LDL size as measured by nuclear magnetic resonance and gradient gel electrophoresis. *Journal of lipid research* 2004; 45: 1069-1076.

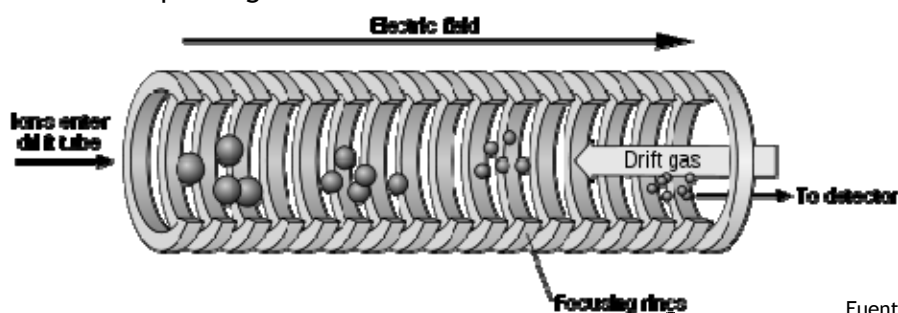
⁴⁶ Arsenault B, Lemieux I, et al: Comparison between gradient gel electrophoresis and nuclear magnetic resonance spectroscopy in estimating coronary heart disease risk associated with LDL and HDL particle size. *Clinical Chemistry*. 2010; 56:789-798.

⁴⁷ Caulfield MP, Li S, et al: Direct determination of lipoprotein particle sizes and concentrations by ion mobility analysis. *Clin Chem*. 2008; 54:1307-1316.

(en estas mismas preparaciones). El estudio también encontró una fuerte correlación ($r = 0,92$) entre la concentración de las Lp no-HDL (colesterol LDL, IDL y VLDL) y la concentración plasmática de Apo B (presente solo en todas las Lp no-HDL)⁴⁸.

Esta prueba es comúnmente utilizada para analizar aerosoles, en nanotecnología, en el desarrollo de fármacos y ahora de forma innovadora en el estudio de Lp. Como una herramienta de investigación, el análisis de movilidad iónica es cada vez más utilizado en el análisis de muestras biológicas, y en especial en la proteómica y metabolómica; proporcionando separaciones más rápidas y de alta resolución en el análisis de proteínas.

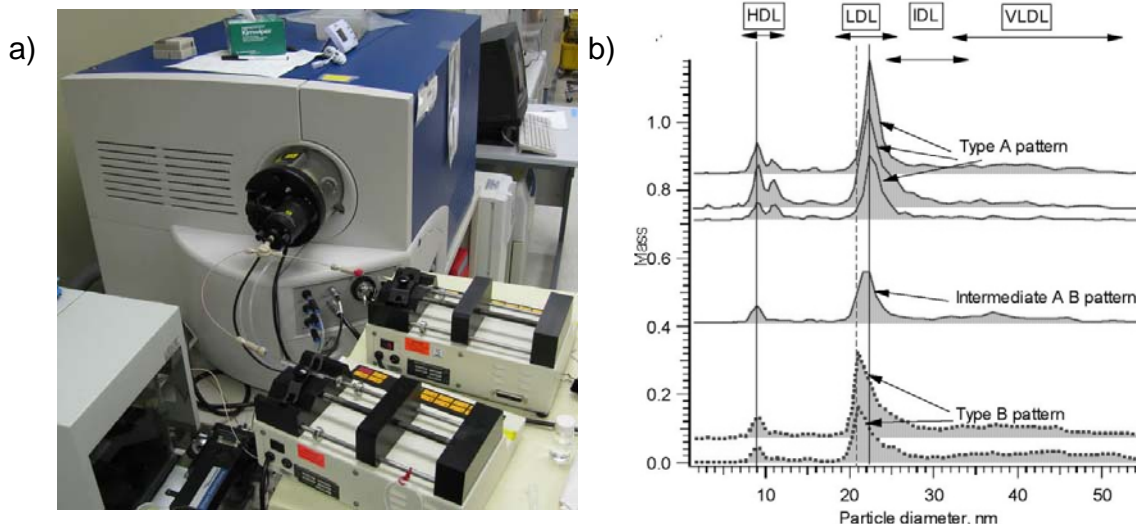
● FIGURA 4.3 Esquema general del funcionamiento del análisis de movilidad iónica



Fuente: www.waters.com

En cuanto a esta prueba, aun se espera conocer los resultados de investigaciones adicionales realizadas por terceros para determinar su utilidad clínica para la predicción, seguimiento y evaluación del tratamiento de pacientes con enfermedades cardiovasculares. Y con esto, el desarrollo de pruebas estandarizadas de diagnóstico.

● FIGURA 4.4 a) Equipo convencional para el análisis de movilidad iónica b) Gráfico convencional de resultados del análisis de movilidad iónica



Fuente: www.questdiagnostics.com

⁴⁸ *Ibidem.*

6. ESPECTROSCOPIA DIFERENCIAL DE MASAS (DMS)

La espectrometría de masas es un método de análisis que se basa en la determinación de masas de especies atómicas o moleculares individuales de la muestra analizada, lo que permite recabar información sobre su naturaleza, y de igual modo su composición estructural.

Los continuos perfeccionamientos de los equipos, su miniaturización, así como la aparición de nuevas técnicas de ionización, han hecho que esta técnica tenga un amplio campo de aplicación en análisis dada su polivalencia y su extrema sensibilidad.

El método se fundamenta en que una cantidad muy pequeña del compuesto a analizar, bajo la forma más conveniente se hace ionizar: las especies portadoras de carga eléctrica resultante son sometidas a la acción de un campo eléctrico y/o magnético según el equipo. El estudio de las trayectorias seguidas, en un recipiente sometido al vacío, permiten determinar la reacción masa-carga de los iones, así como, eventualmente, su naturaleza. Este método destruye el compuesto analizado aunque solo es necesaria una cantidad ínfima pero ha demostrado una gran sensibilidad.

El resultado del análisis se presenta en una gráfica denominada *espectro de masas* que muestra la abundancia de cada tipo de ion formado indicado, a continuación su relación carga/masa en orden creciente de masas. Las etapas principales por las que pasa la muestra son: Ionización, aceleración, separación, detección y obtención del espectro de masas.

En cuanto a este método también puede extenderse al estudio de muestras compuestas por mezclas moleculares a condición de separar previamente los compuestos antes de pasar por el espectro de masas.

Este método demuestra la utilidad de la DMS de alta-baja resolución para el análisis cuantitativo de mezclas de proteínas intactas y tiene potencial para facilitar una mejor comprensión de la biología de HDL, una cuantificación relativa de la exploración completa de su masa y la complejidad biológica a nivel de proteínas (útil en el estudio de las apolipoproteínas).

En esta técnica basada en la proteómica ha llevado al desarrollo de plataformas que pueden detectar, identificar y cuantificar miles de proteínas sin el uso de anticuerpos selectivos, y en este caso, el análisis de la composición de los principales componentes del HDL por conteo espectral.

Se han utilizado Lp puesto que muchas de las subpartículas (principalmente HDL) tienen un peso molecular inferior 30 kDa lo cual las hace ideales para este método, generalmente se lleva a cabo en plasma fresco con EDTA, el cual primero debe pasar por un proceso de separación de las LP en sus diversas subclases mediante alguna otra técnica, para posteriormente realizar este tipo de análisis. Con éste método se han logrado importantes avances en la identificación de proteínas específicas relacionadas con el riesgo cardiovascular^{49, 50} así como su caracterización, la detección de diferencias cuantitativas en las proteínas intactas y ha abierto el paradigma para la obtención de patrones de modificación en las isoformas de la proteína para su correlación con una amplia plataforma de perfiles.

⁴⁹ Mazur MT, Cardasis HL, et al: Quantitative analysis of intact apolipoproteins in human HDL by top-down differential mass spectrometry. PNAS. 2010; 107:7728-7733.

⁵⁰ Heinecke JW: The HDL proteome: A marker—and perhaps mediator— of coronary artery disease. J Lipid Res 2009; 50:S167-S171.,

7. USO DE NANOCRISTALES

En estos últimos años, la ciencia está buscando tener la capacidad de detectar el estado de los sistemas biológicos y organismos vivos en la escala de los nanómetros de longitud; en virtud de que las unidades funcionales elementales de los sistemas biológicos: enzimas, membranas, ácidos nucleicos, proteínas, etc. poseen complejos componentes a nanoescala. Así mismo se está llevando a cabo el desarrollo de nueva tecnología para lograr este objetivo; produciendo así, una gran cantidad de nuevos tipos de sensores biológicos. Estos nuevos sistemas son capaces de detectar el objeto de interés a nivel de una sola molécula en células vivas, y de integrarse en paralelo para la detección de múltiples señales, lo cual está permitiendo una gran diversidad de experimentos simultáneos, mejores detecciones y controles.

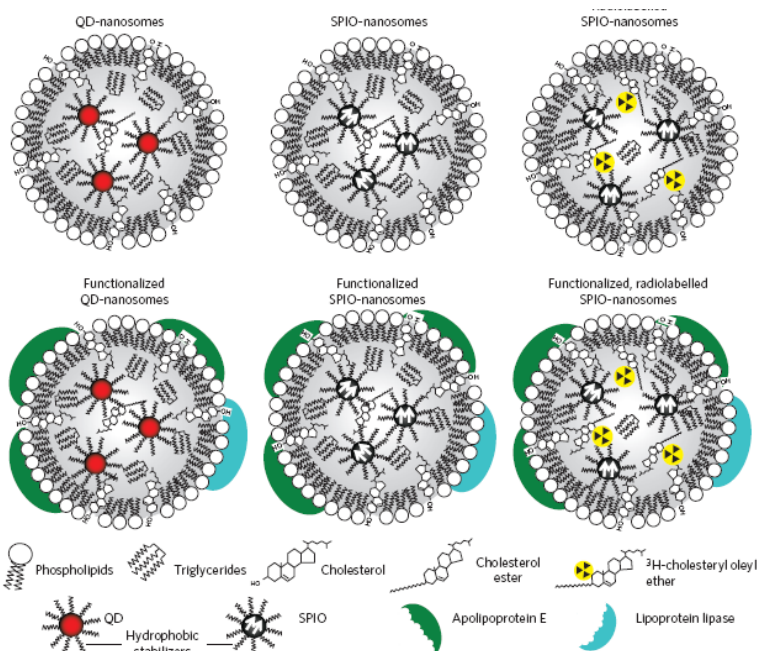
Hay muchos puntos de intersección entre la nanociencia, la nanotecnología y las ciencias biológicas. Actualmente, el hecho de que los materiales en estado sólido, metales, semiconductores y e imanes; de los cuales se obtienen sensores ópticos y eléctricos, ya se pueden encontrar en la escala de tamaño de cada una de macromoléculas biológicas está teniendo un gran impacto. Algunos ejemplos son el desarrollo y comercialización de una amplia gama de métodos cuánticos coloidales de bio-conjugación y la incorporación de moléculas biológicas en cristales fotónicos para controlar la velocidad y la orientación con que las biomoléculas emiten luz (método que ya ha sido utilizado para la detección de carbohidratos en sangre⁵¹).

• FIGURA 4.5 Uso de nanocrisales para la construcción de nanosomas, útiles en la cuantificación del metabolismo de lipoproteínas.

Fuente: Bruns OT, Ittrich H, et al (2009).

En relación a las Lp, actua las Lp in vivo con el uso de nanocrisales y la ayuda de la RMN en tiempo real. Los nanocrisales de óxido de hierro son puntos cuánticos semiconductores y superparamagnético con propiedades físicas que se adaptan bien para la proyección de imagen biomédica, los cuales se han incrustado en el núcleo lipídico de las micelas de Lp presentando así, características optimizadas para las imágenes cuantitativas y la cuantificación de la cinética del metabolismo de las lipoproteínas en vivo (Ver figura 4.5).

Muchos estudios para entender la cinética de las rutas metabólicas de las Lp se han realizado con radiactivos e isótopos estables, sin embargo, estas técnicas no permiten el análisis directo de la velocidad en las vías



⁵¹ Asher SA, Peteu SF: Polymerized crystalline colloidal array chemical-sensing materials for detection of lead ibody fluids. Anal. Bioanal. Chem. 2002; **373**: 632–638.

metabólicas ni la captación por parte de los tejidos, ni mucho menos que sea dada en tiempo real. Lo cual se ha podido lograr con el uso de nanocristales sin aplicar las complejas modificaciones de superficie que se suelen ser necesarias para la bioimagen.

Además, una gran ventaja de este procedimiento es que sólo el núcleo hidrofóbico se etiqueta, y la estructura biológica de la superficie correspondiente se mantiene inalterada; disminuyendo cualquier cambio en la superficie de las Lp que pudieran producir cambios en sus propiedades de unión a las células y por lo tanto conducir a la alteración de su captación. Con el uso de los nanosomas (producidos mediante la utilización de nanocristales) se ha permitido el estudio de la fisiología del metabolismo de las Lp con una resolución espacial no lograda con cualquier otra técnica⁵². La Figura 4.5 ilustra la construcción de nanosomas a nivel molecular.

⁵² Bruns OT, Itrich H, et al: Real-time magnetic resonance imaging and quantification of lipoprotein metabolism in vivo using nanocrystals. *Nature Nanotechnology*. 2009; 4: 193-201.



• DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

El desarrollo de nuevas metodologías ha jugado un papel clave en el avance de todas las áreas de la investigación. Específicamente, los inicios del entendimiento de la estructura de las lipoproteínas y su metabolismo fueron posibles gracias a técnicas como la ultracentrifugación y la electroforesis; las cuales aún permanecen tan vigentes y utilizadas como años atrás. Más recientemente, el avance de las técnicas de biología molecular, la nanotecnología y la espectroscopia, en sus diversas variantes, abrió posibilidades que eran impensables hace algunas décadas, las cuales, en la actualidad están siendo cada vez más utilizadas y reconocidas por su especificidad e impacto a nivel de investigación, sumando día con día nuevos hallazgos en el área de las lipoproteínas.

En esta tesis se revisó desde la utilización de técnicas convencionales, ampliamente conocidas y aplicadas en el laboratorio clínico para la cuantificación de lipoproteínas, hasta el uso reciente, innovador y propositivo de nuevas técnicas analíticas para el mismo fin. Métodos que actualmente ya se están usando y que considero, no en mucho tiempo y gracias a la miniaturización de equipos y adelanto tecnológico, no tardarán en utilizarse cada vez más en la cuantificación clínica de lipoproteínas. Todo esto en base a que, con respecto a las técnicas convencionales de cuantificación de lipoproteínas, presentan ventajas insuperables, puesto que proporcionan una más y mejor información, mayor especificidad y mayor sensibilidad a los resultados brindados al profesional de la salud y por lo tanto, al paciente.

Las pruebas de colesterol de rutina basadas en tecnología de hace 30 años sólo representan el 50 por ciento de la previsibilidad del riesgo de enfermedades cardíacas en la población de EE.UU.A. Además, tan sólo el 25 por ciento de la enfermedad cardíaca prematura se atribuye exclusivamente a las LDL elevadas. Como resultado, muchos pacientes en riesgo a menudo no se detectan o tienen el nivel de riesgo mal clasificado, cuando se utilizan las pruebas de colesterol de rutina.

Los químicos utilizaron métodos colorimétricos durante mucho tiempo para determinar el colesterol, aunque suelen ser poco precisos, utilizan reactivos corrosivos y peligrosos, presentan interferencias y resultan difícilmente automatizables. Por ello se han sustituido casi por completo por otro tipo de métodos, como los enzimáticos o inmunológicos. No obstante los nuevos métodos (RMN, espectroscopia de masas, nanocristales, VAP*) se han estado comparando en varios estudios de investigación, con los métodos tradicionales y se han obtenido mejores valores, debido a que estas técnicas no se limitan a solo cuantificar la concentración de Lp en la sangre, sino que aunado a esto proveen de información muy valiosa al profesional de la salud, como mediciones del metabolismo de Lp in vivo o mayor especificidad y sensibilidad en los resultados.

En los resultados obtenidos en esta tesis, se puede mencionar que, en el caso de las técnicas que emplean fórmulas para calcular el contenido de LDL y VLDL, como por ejemplo la fórmula de Friedewald y algunas técnicas enzimáticas; tienen la desventaja de no medir directamente estas subfracciones sino un total general por tipo de Lp, además de que en algunos casos no aplican en condiciones de elevada concentración de triglicéridos.

Con respecto a las técnicas electroforéticas, es de mencionarse que estudios han sugerido que muchos de éstos métodos no logran una precisión aceptable, además de que algunas pruebas de aptitud han demostrado una inexactitud substancial en los métodos comunes utilizados en los laboratorios.

Para el caso de la precipitación con polianiones, estudios han mostrado que brindan resultados inexactos cuando los valores séricos son elevados y también que dan falsamente resultados elevados con la presencia de remanentes de VLDL, además de que no hacen distinción entre distintas subclases de Lp. Los métodos en los que se precipita la HDL, han mostrado que generalmente sobreestiman el valor de ésta, por el hecho de que las otras clases de Lp no son removidas completamente de la sangre.

Actualmente se han identificado más de 200 factores de riesgo en relación con cardiopatías, estudios epidemiológicos recientes han demostrado que los niveles elevados de colesterol, particularmente los de LDL-colesterol continúan siendo un factor independiente de riesgo y bien establecido para el desarrollo de la enfermedad cardiovascular (Exp Biol Med., 2003). En relación al LDL-colesterol, se ha registrado que su descenso puede prevenir más episodios isquémicos en los pacientes. Sin embargo, en la actualidad se está buscando una cuantificación mas clara, precisa y específica de cada una de las subclases de lipoproteínas existentes, esto en base a que cada vez los investigadores se están adentrando mas al mundo de la biología molecular, proporcionando e innovando pruebas para cada subclase de las subclases de lipoproteínas humanas, encontrando de esta forma que el LDL ya no es tanto el índice de referencia negativo para predisposición a cardiopatías, sino que ahora se ha hecho una mejor descripción de la clase “problemática” exacta. A continuación resumo estos dichos:

HDL₂. El mejor colesterol, es el más protector de las subclases de HDL, la Lp(a) o colesterol del “ataque cardiaco” se ha identificado como un factor de riesgo independiente para cardiopatías y ataques cardiacos principalmente. La LDL densa (patrón B) es el “peor colesterol”, siendo ésta la más aterogénica de las subclases de LDL. Los remanentes de LDL, llamados ahora colesterol “malo” no LDL, identificados como riesgos independientes de enfermedades del corazón. VLDL transportador principal de triglicéridos, considerado ahora como un factor independiente de riesgo cardiaco. Las remanentes VLDL₃ densas, son el colesterol malo no-LDL y también esta considerado como una factor de riesgo independiente. En estos días, el término de “colesterol bueno” dado al HDL ha venido a cambiar por el de “el mejor colesterol” para el caso de la HDL₂ y el término de “colesterol malo” dado a la LDL se ha cambiado por el de el “peor colesterol” para referirse a la LDL densa.

Pero la realidad es que aun existen muchas discrepancias entre cuáles son los mejores marcadores de riesgo cardiopático, publicando que el radio, tamaño y densidad de las Lp funciona mejor que solo la cantidad, otros diciendo que lo son las determinaciones de Apolipoproteinas A ó B y algunos más considerando al colesterol no-HDL, pero finalmente la mayoría se inclina a que el conjunto de estos tres parámetros han demostrado ser los indicadores/marcadores de riesgo (aun más específicos y sensibles que las LDL aisladas), como se pensaba anteriormente.

Por otra parte, es evidente que la tendencia de mortalidad por cardiopatías se ha incrementado y no muestra evolución estática o decremento, por lo que se han hecho llamados principalmente a los profesionales de la salud a influir de una manera clara y coordinada, en la medida de lo posible. Sugiriendo y analizando en cada caso promotores secundarios de enfermedades cardíacas, como la obesidad, el tipo de dieta, las adicciones, etc. En base a que el riesgo de padecer un evento cardiovascular está dado por la edad, el sexo, el estilo de vida y la presencia de factores etiológicos que predisponen al desarrollo de la enfermedad, y no solo los niveles de colesterol.

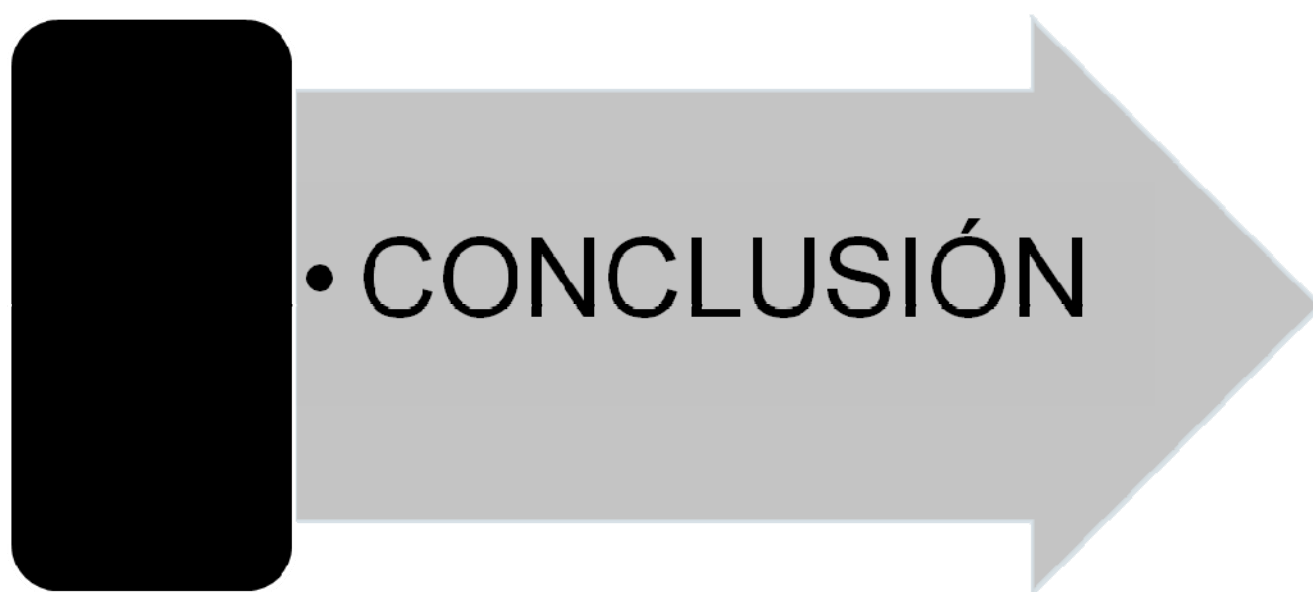
En otro punto, resulta interesante discutir también que se ha buscado abordar el metabolismo de las Lp a fin de conocer a profundidad la verdadera causa de la variación de los niveles de Lp circulantes, lo cual conlleva a un extenso análisis de una diversa serie de proteínas y enzimas participantes en el metabolismo, sin embargo aun no se encuentran métodos de laboratorio reproducibles y confiables que puedan determinar su actividad, como es el caso de la LCAT, CETP, PLTP, LPL y LH⁵³. Si se logrará esto se avanzaría enormemente en el diagnóstico de pacientes en riesgo debido a causas puramente metabólicas.

Finalmente y con relación a las técnicas innovadoras para el análisis de las Lp, recientemente la Academia Nacional de Bioquímica Clínica hizo un llamado a la estandarización de las tecnologías usadas para la determinación de las subfracciones de Lp. En virtud, de que muchas de estas técnicas planteadas solo pueden realizarse en las compañías que las llevan a cabo, o utilizan técnicas propias que no han sido aun publicadas.

Pero, ¿Qué es realmente lo que están técnicas nuevas ofrecen? Entre sus ventajas se encuentran: el diagnóstico certero y asesoramiento del riesgo de padecer una cardiopatía, especialmente a individuos con valores de bajos a normales de LDL, por la detección de la presencia de altas concentraciones de partículas altamente aterogénicas (ej. Apo B) o por la presencia de pequeñas partículas densas de LDL. También ofrecen técnicas de medición *in vivo* en tiempo real, para apreciar otro tipo de características, mayor especificidad, amplia área de aplicación, utilidad en las terapias de disminución de lípidos, entre otros.

Y aunque la mayoría de estas técnicas para la cuantificación de las subfracciones de Lp no están listas todavía para su uso clínico de rutina (aunque ya se está trabajando en ello), no podemos minimizar su importantes uso para el avance de la investigación en esta área, para el desarrollo del potencial de nuevas terapias, para un mejor entendimiento de la fisiopatología de las cardiopatías y para ciencias tan actuales como la proteómica y la metabolómica, de aquí la importancia de analizarlas en esta tesis y presentarlas al lector.

⁵³ Pérez-Méndez O, et al: Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. Arch Inst Cardiol Méx. 2000; 70:312-321.



CONCLUSION

En algún tiempo se habló sobre el colesterol como un marcador de riesgo vascular, ahora solo se escuchan en todas las publicaciones los nombres de las subfracciones de las subpartículas en las que está dividido, lo cual no es de extrañarse si consideramos que en estos últimos años, ya todo gira en torno al orden de los nanómetros. Por tanto, las técnicas para cuantificar a las lipoproteínas cada vez tienden más a lo subfraccionado. Asumiendo la clara relación existente entre las dislipoproteinemias y los eventos cardiovasculares es importante reconocer y aplicar las diferentes alternativas clínicas y bioquímicas existentes para definir claramente los valores objetivos correspondientes a las lipoproteínas y otros factores de riesgo secundarios (tabaquismo, diabetes, genética, menopausia, tipo de dieta, ejercicio, etc.) para una correcta estratificación del riesgo. Pero sobretodo, hacer todo lo posible para que este conocimiento del tema no deba ser utilizado hasta el último momento, sino que venga a ser lo primero, mediante una detección oportuna del riesgo para buscar llevar a cabo medidas preventivas y no correctivas.

En México según el censo de población 2010 el promedio de vida es de 75 años, sin embargo las estadísticas nos muestran que las enfermedades del corazón son la causa número uno de muertes en nuestro país, en números se traduce en la siguiente cifra: 92 679 enfermedades del corazón, sumando a estas las 59 801 producidas por enfermedades isquémicas del corazón. Los números son alarmantes, pero a su vez son un llamado a unir esfuerzos como profesionistas de la salud para estar actualizados, coordinados, innovando, investigando, informando y colaborando por una causa en la que bien vale la pena unir esfuerzos.

La tecnología y su avance han brindado en estos últimos años técnicas para las cuantificaciones de Lp muy innovadoras, sensibles, precisas y muy prometedoras las cuales han sido descritas en este trabajo, pero que a modo de conclusión me gustaría resumir algunas de sus limitaciones para su utilidad clínica, en vista de que las ventajas ya fueron expuestas en esta tesis:

1. Falta de estandarización y comparación de información provista por varias pruebas,
2. La sobrecarga de información puede minimizarse centrarse en la clave principal de la cuantificación de las Lp,
3. Falta de accesibilidad,
4. No se ha demostrado una relación costo—beneficio.

Finalmente, cabe aclarar que el laboratorio clínico representa una herramienta indispensable para el diagnóstico y la prevención de este tipo de trastornos, por lo cual existen métodos para realizar este tipo de análisis utilizados de manera tradicional. Sin embargo, la ciencia está en un constante avance y cada día se obtienen nuevos conocimientos en esta área; debido a la prevalencia y aun al incremento de las cardiopatías a nivel mundial, en esta tesis he analizado los avances que ha habido en el área de investigación y de diagnóstico que sirven al Químico Farmacéutico Biólogo en su actualización y por tanto, que nos pueden poner a la vanguardia en cuanto a métodos de determinación de Lipoproteínas; con el objetivo de ser mejores colaborando en el diagnóstico de los pacientes, poniendo a su vez las bases para abrir el panorama a nuevas áreas de investigación. Cumpliendo el objetivo inicial planteado en esta tesis.

ABREVIATURAS

- ACAT: Acil-CoA, colesterol-O-aciltransferasa
- APO: Apolipoproteína
- CE: Colesterol esterificado
- CL: Colesterol libre
- CT: Colesterol total
- CV: Cardiovascular
- DMS: Espectroscopia diferencial de masas
- ECC: Enfermedades coronarias del corazón
- ECV: Eventos cardiovasculares
- FL: Fosfolípidos
- GGE: Electroforesis en gel de gradiente
- HDL: lipoproteínas de alta densidad
- IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia
- IM: Infarto de miocardio
- LCAT: Enzima lecitin-colesterol-acetiltransferasa
- LDL: Lipoproteínas de baja densidad
- LE: Lipasa endotelial
- LH: Lipasa hepática
- Lp: Lipoproteínas
- LPL: Lipoproteínlipasa
- MS: Espectroscopia de masas
- PTEC: Proteína de Transferencia de Ésteres de Colesterol
- PTPL: Proteína de Transferencia de Fosfolípidos
- QM: Quilomicrones
- REL: retículo endoplásmico liso

RER: retículo endoplásmico rugoso

RMN: Resonancia magnética nuclear

SR-B1: Receptor Scavenger B1

Sf: Índice de flotación en unidades Svedberg

TG: Triglicéridos

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

GLOSARIO DE TERMINOLOGÍAS

ACIDOSIS METABÓLICA: Es aquel trastorno ácido base que se lleva a cabo por una disminución en la concentración plasmática de bicarbonato, la cual puede disminuir por aumento en la concentración de H⁺ que consume el bicarbonato durante el proceso de neutralización.

APOLIPOPROTEINAS: Parte proteínica a la que se unen los lípidos no hidrosolubles para formar lipoproteínas. Estos agregados multimoleculares están constituidos por un núcleo hidrófobo que contiene ésteres de colesterol y triglicéridos, rodeado de una capa con una superficie hidrófila formada por fosfolípidos, proteínas y cierta cantidad de colesterol libre.

ARTERIAS: una arteria es cada uno de los vasos que llevan la sangre oxigenada desde el corazón hacia los diversos órganos y tejidos del cuerpo. Su elasticidad y capacidad de distensión les permite amortiguar las pulsaciones generadas por el corazón. La pared de la arteria tiene tres capas principales: adventicia, media e íntima (desde el exterior de la arteria al interior).

ARTERIOLAS: son las ramas más pequeñas de las arterias, poseen paredes musculares gruesas y regulan la resistencia a través de los distintos órganos.

ATEROGÉNICO(A): sustancia capaz de generar o provocar aterosclerosis.

ATEROMA: los ateromas son lesiones focales que se inician en la capa interna de una arteria caracterizada por un exceso de LDL (lipoproteínas de baja densidad) en el torrente sanguíneo y puede desencadenar en trombos o incluso arteriosclerosis.

ATEROSCLEROSIS: Enfermedad de la pared de los vasos arteriales, consistente en un engrosamiento y dureza anormal de las cubiertas internas, debido a un depósito de material graso disminuyendo el diámetro del vaso arterial e incluso obstruyéndolo.

BIOMARCADORES: llamados también marcadores biológicos, son sustancias presentes en la sangre, algunos líquidos del cuerpo -como la orina o la saliva- y algunos tejidos, cuya presencia o cantidad es indicadora de toxicidad en el organismo. Es decir, es una molécula biológica que "marca" los cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico.

CAPILARES: es la menor unidad anatómica del árbol vascular, a través de finas paredes se produce el intercambio de materia entre la sangre y los tejidos circundantes.

CARDIOPATÍA: Nombre genérico utilizado para referirse a las enfermedades del corazón.

CATABOLISMO: Conjunto de reacciones enzimáticas mediante las cuales el organismo degrada los hidratos de carbono, lípidos y proteínas consumidos como nutrientes,

obteniendo moléculas más pequeñas con la subsecuente liberación de energía. Junto con el anabolismo, constituye el metabolismo

CENTRIFUGACIÓN ISOPÍCNICA; Tipo de centrifugación que separa las partículas en función del gradiente de densidad de las mismas. Las partículas se mueven en el gradiente hasta que llegan a un punto donde la densidad de éstas y la del gradiente son idénticas.

CINÉTICA: rama de la física que describe el movimiento de los cuerpos.

COLESTEROL: Lípido de esteroide sintetizado por el hígado y transportado en el torrente sanguíneo a las membranas de todas las células animales; desempeña un papel central en muchos procesos bioquímicos y, como una lipoproteína que recubre las paredes de los vasos sanguíneos, se asocia con enfermedades cardiovasculares.

CONVOLUCIÓN: En matemáticas y, en particular, análisis funcional, una convolución es un operador matemático que transforma dos funciones f y g en una tercera función que en cierto sentido representa la magnitud en la que se superponen f y una versión trasladada e invertida de g . Una convolución es un tipo muy general de promedio móvil, como se puede observar si una de las funciones la tomamos como la función característica de un intervalo.

DECONVOLUCIÓN: Cualquiera de varios tipos de análisis que elimina o los intentos para eliminar los efectos de la convolución de los datos medidos. Operaciones matemáticas empleadas en restauración de señales para recuperar datos que han sido degradados por un proceso físico que puede describirse mediante la operación inversa a una convolución.

DISCOIDE: parecido a un disco, plano y circular.

DISLIPIDEMIA: Alteraciones patológicas, cualitativas o cuantitativas, en el metabolismo de los lípidos o lipoproteínas que circulan en sangre.

DISLIPOPROTEINEMIAS: Las dislipoproteinemias son trastornos que pueden ser ocasionados por defectos en el transporte de los lípidos.

ELECTROFORESIS: Método de separación o fraccionamiento molecular basado en la diferencia de movilidad de las moléculas bajo la influencia de un campo eléctrico, ligada principalmente a la carga eléctrica propia de cada una de las moléculas.

ELECTROFORETOGRAMA (ELECTROFEROGRAMA): cuadro densitométrico o colorimétrico obtenido con tiras de papel filtro sobre las cuales sustancias se han separado por electroforesis.

ELUSIÓN: es un término utilizado en química orgánica y analítica que describe el movimiento de partículas en una columna cromatográfica, que típicamente fluyen hacia un detector.

Predecir y controlar el orden de la elusión es un aspecto clave de los métodos cromatográficos.

ESPECTROSCOPIA: Es la rama de la física concerniente a la producción, medición e interpretación del espectro electromagnético saliente, ya sea la emisión o absorción de energía radiante mediante varias sustancias.

FACTOR DE RIESGO: es toda circunstancia o situación que aumenta las probabilidades de una persona de contraer una enfermedad y en términos de la presente, es aquel elemento que facilita la aparición de aterosclerosis y por lo tanto de enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión o la hipercolesterolemia.

FOTÓN: Partícula o quantum de energía de luz. Se deriva de la teoría del quantum de Plank y de la teoría de la energía de Einstein que dice que la radiación luminosa es emitida y absorbida en quanta definida y viaja con la velocidad de la luz.

GRADIENTE: Diferencia de valor para un fenómeno entre dos puntos del espacio en un mismo momento (temperatura, presión, concentración, etc.).

ISOFORMA: Una isoforma es una versión de una proteína con pequeñas diferencias de otra isoforma de la misma proteína. Se pueden producir diferentes formas de una proteína a partir de genes diferentes pero relacionados entre sí, o pueden derivarse del mismo gen. Un gran número de isoformas son causadas por polimorfismos de nucleótido único, las pequeñas diferencias genéticas entre los alelos de un mismo gen.

LACTESCENTE: De aspecto lechoso. Suero lipémico.

LCAT: Enzima lecitin-colesterol acil-transferasa (LCAT). Esta enzima LCAT, sintetizada en el hígado, es activa en plasma y es responsable de la formación de ésteres del colesterol (EC) utilizando apoproteínas como cofactor y como sustratos a la fosfatidilcolina y colesterol libre.

LECTINAS: Las lectinas son proteínas que se unen a azúcares con una elevada especificidad para cada tipo distinto. Su principal papel está en los fenómenos de reconocimiento, tanto a nivel molecular como celular

LÍPIDO: Compuestos químicos de origen orgánico que tienen una apariencia oleosa y que no son solubles en agua pero sí en algunos disolventes orgánicos. Incluyen a los ácidos grasos, grasas neutras (triglicéridos), ceras, colesterol, esteroides y fosfátidos. Un nutriente esencial que proporciona energía concentrada, transporta las vitaminas liposolubles y suministra ácidos grasos esenciales.

METABOLISMO: Conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de degradar sustancias complejas para obtener compuestos

sencillos y energía (catabolismo) o bien, en utilizar éstos en la creación otras sustancias, del tipo constitutivas (anabolismo), por ejemplo.

METABOLÓMICA: La metabolómica es el conjunto de ciencias y técnicas dedicadas al estudio completo del sistema constituido por el conjunto de moléculas, intermediarios metabólicos, metabolitos, hormonas y otras moléculas señal, y los metabolitos secundarios que se pueden encontrar en un sistema biológico.

MORBIMORTALIDAD: mortalidad por causa de una enfermedad.

NANÓMETRO: millonésima parte de un milímetro (10^{-9} m)

OSMIOFÍLICO (A): se refiere a la propiedad de ciertos compuestos de ser afines al osmio, principalmente como tetraóxido, reaccionando para formar un depósito color negro, y por lo tanto, son utilizados para identificación.

QUILOMICRON: Partículas que transportan la grasa desde el interior de la célula intestinal hasta el hígado a través del torrente circulatorio. Son muy abundantes en la sangre después de una comida muy rica en grasa.

RIESGO CARDIOVASCULAR: es la probabilidad de desarrollar una enfermedad que afecte al corazón o a las arterias, en un determinado periodo de tiempo.

TRIGLICÉRIDO: Son ésteres de ácidos grasos y constituyen el principal componente de las grasas y aceites. Circulan por la corriente sanguínea y forman parte del tejido adiposo.

ULTRACENTRIFUGACIÓN: Método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad mediante una fuerza centrífuga optimizada para girar su rotor a velocidades muy elevadas, capaces de generar una aceleración tan alta como de 1 000 000 g ($9,800 \text{ km/s}^2$).

VASCULAR: por lo general, un término relacionado con este concepto hace referencia a los vasos sanguíneos.

VENAS: vasos sanguíneos que transportan sangre desde los capilares de las extremidades y pulmones a las aurículas del corazón.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ascaso, J. (1990): *Lo fundamental en Hiperlipoproteinemias*. Ediciones Doyma S.A., España.
- Bauer, J. (1986): *Análisis clínicos. Métodos e interpretación*. Editorial Reverté S.A., España.
- Baynes, W. – Dominiczak, H. (2006); *Bioquímica Médica*. 2da Edición. Ed. Elsevier-Mosby, España.
- Berkelman T., Stenstedt T. (1998): *2-D Electrophoresis using immobilized pH gradients. Principles & methods*. Amersham Pharmacia Biotech Inc., Sweden.
- Brody, T. (1999): *Nutritional Biochemistry*. 2nd Edition. Ed. Academic Press, USA.
- Casanueva, E. – Kaufer-Horwitz M. (2001): *Nutriología Médica*. Ed. Medica Panamericana, México.
- Casimir, C. – Akoh D. (2008): *Food lipids, Chemistry, Nutrition & Biotechnology*. 3rd Edition. Ed. CRC Press, USA.
- Castrillón – Palma (1994): *Metabolismo, Patología y Genética de las Lipoproteínas*. UAM, México.
- Champe, C. – Harvey, R. (2006): *Bioquímica*. Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México.
- Converse, C. (1992): *Lipoprotein Analysis a Practical Approach*. Oxford University Press, England.
- Corominas, V. (1973): *Los lípidos. Laboratorio y Clínica*. Ediciones Toray S.A., España.
- Farquhar, J. – Spiller, G. (2001): *Enfermedades cardíacas. Toda la información que necesitas saber sobre tu corazón*. Ed. Vida y Bienestar, España.
- Ganong, W. (1984); *Fisiología médica*. Ed. El Manual Moderno S.A. de C.V, México.
- Gibney, J. (2003): *Nutrición y metabolismo*. Editorial Acribia S.A., España.
- Hemming, F. - Hawthorne, J. (2001): *Análisis de lípidos*. Ed. Acribia, S.A., España.
- Kuang, C. (1992); *Fatty acids in foods & their health implications*. Ed. Marcel Dekker, Inc., USA.
- Lagarde, M. - Spector, A. (1999): *Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. Proceeding of the 3rd Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL)*. AOC Press, USA.
- Latarjet, M. – Ruiz, L. (2005): *Anatomía Humana*. 4a Edición. Tomo 1. Ed. Médica Panamericana S.A., Argentina.

- Melo, V. – Cuamatzi O. (2007): *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2da Edición. Editorial Reverté, México.
- Mills, G. Love, P.A – Weech, P.K. (1984): *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 14. Elsevier, Holanda.
- Mittal, S. (2005): *Coronary Heart Disease in Clinical Practice*. Ed. Springer-Verlay, London.
- Nelson, D.L. (2005): *Lehninger. Principios de Bioquímica*. 4ª Edición. Ediciones Omega, España.
- Ordovas, J. (1998): *Methods in Molecular Biology*, Vol. 110: Lipoprotein protocols. Ed Humana Press Inc, USA.
- Pacheco, L. (2006): *Bioquímica Médica, Limusa Noriega Editores, México*.
- Rouessac, F. – Rouessac, A. (2003): *Métodos y técnicas instrumentales modernas. Teoría y ejercicios resueltos. Análisis Químico*. Ed. Mc Graw Hill / Interamericana de España, S.A., España.
- Thomas, R. (2003): *Curar las enfermedades del corazón con la medicina integrada*. Ed. Terapias Verdes, S.L., España.
- Tortora, G. – Grabowski, R. (2006): *Principios de anatomía y fisiología*. 9a Edición. Ed. Oxford University Press, México.
- Vance, DE - Vance, JE. (1985): *Biochemistry of Lipids and Membranes*. The Benjamin/CummingPublishing Company, USA.
- Zagoya-Oropeza. (2007): *Bioquímica. Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida*. Mc Graw - Hill, India.

REFERENCIAS HEMEROGRÁFICAS

- Achaval A: hiperlipidemias y aterosclerosis. Diagnóstico y tratamiento. Rev Fed Arg cardiol 2009; 38: 7-16.
- Amit V, Khera, Cuchel, M.D., et al: Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis. N Engl J Med 2011; 364:127-135.
- Aronow WS, Ahn C, et al: Correlation of serum lipids with the presence or absence of coronary artery disease in 1793 men and women aged > 62 years. Am J Cardiol. 1994; 73:702-3.
- Arsenault BJ, Lemieux I, et al: Comparison between Gradient Gel Electrophoresis and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Estimating Coronary Heart Disease Risk Associated with LDL and HDL Particle Size. Clinical Chemistry 2010; 56: 789-798.
- Bares DM: testeo lipoproteico y riesgo cardiovascular. Nuevas alternativas. Rev Fed Arg Cardiol 2009; 38: 186-192.
- Barter PJ, Brewer HB, et al: Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 160-167.
- Brown WV: Impact of dyslipidaemia. Lessons from clinical trials. Pharmacoeconomics. 1998; 14(3):1-9.
- Bruns OT, Ittrich H, et al: Real-time magnetic resonance imaging and quantification of lipoprotein metabolism in vivo using nanocrystals. Nature Nanotechnology 2009 4: 193-201
- Chapman MJ, Goldstein S, et al: A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. J. Lipid Res. 1981; 339-358.
- Chávez R, Ramírez JA, et al: La cardiopatía coronaria en México y su importancia clínica, epidemiológica y preventiva. Archivos de cardiología de México 2003; 73: 105-114.
- Chen YC, CHEN YI, et al: The HMG-CoA Reductase Gene and lipid and Lipoprotein Levels: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Lipids 2009; 44: 733-743.
- Cooney MT, Dudina A, et al: Cardiovascular Risk-Estimation Systems in Primary Prevention. Do They Differ? Do They Make a Difference? Can We See the Future. Circulation. 2010; 122:300-310.
- Dobiášová, M.: Atherogenic Index of Plasma [Log(Triglycerides/HDL-Cholesterol)]: Theoretical and Practical Implications. Clinical Chemistry. 2004;50:1113-1115.
- Friday KE, et al: Aggressive lipid management for cardiovascular prevention: evidence from clinical trials. Exp Biol Med. 2003; 228(7) :769-78.

- Fuentes X, Braga S, et al: Comparrison of measurement uncertainties in direct plasma low-density lipoprotein cholesterol method of measurement and indirect estimation according to friedewald equation. *Acsred Qual Assur* 2009; 14:179-183.
- Gavin J, Blake MB, et al: Low-Densy Lipoprotrin Particle Conocentration and Size as Determined by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy as Predictors of Cardiovascular Disease in Women. *Circulation* 2002; 106: 1930-1937.
- Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al: Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227-39.
- Kanell WB, Wolf PA, Castelli WP et al.: Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: The Framingham Study. *JAMA* 1987;258: 1183-1186.
- Kritchevsky D, et al: Atherosclerosis and nutrition. *Nutr. Int.2.*, 1986; 290-297.
- Mazur MT, Cardasis HL, et al: Quantitative analysis of intact apolipoproteins in human HDL by top-down differential mass spectrometry. *PNAS*. 2010; 107:7728-7733.
- McLean, J.A., et al: Ion mobility-mass spectrometry: a new paradigm for proteomics. *International Journal of Mass Spectrometry*,2005; 240: 301-315.
- Mora S: Are advanced lipoprotein testing and subfractionation clinically useful?. *Circulation* 2009; 119: 2396-2404.
- Nordoy A: Dietary fatty acids and Coronary Heart Disease. *Lipids* 1999;34:S19-S22.
- O'Keefe JH Jr., Cordain L, Harris WH, Moe RH, Vogel R: Optimal low-density lipoprotein is 50 to 70 mg/dl. Lower is better and physiologically normal. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:2142- 46.
- Otvos J: Measurement of Triglyceride-Rich lipoproteins by Nuclear Magnetic Resonante Spectroscopy. *Clin.Cardiol* 1999; 22(suppl.II): II-21-II-27.
- Pérez-Méndez O, et al: Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. *Arch Inst Cardiol Méx.* 2000; 70:312-321.
- Pérez O: Lipoproteínas de alta densidad (HDL). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención de la aterosclerosis?. *Arch cardiol Mex* 2004; 74(1): 53-67.
- Rambaldi DC, Pierluigi R, et al: Enzymatic determination of cholesterol and triglycerides in serum lipoprotein profiles by asymmetrical flow field-flow fractionation with on-line, dual detection. *Analytica Chimica Acta*: 229973: 2009.
- Rizzo M, Berneis K: Low-density lipoproteins size and cardiovascular risk assessment. *QJ Med* 2006; 99:1-14.
- Sanz G, Fuster V: Prevención de las enfermedades cardiovasculares: Un reto sin resolver. *Rev Fed Arg Cardiol* 2010; 39 (3): 157-162.

- Sharrett AR, Ballantyne CM, et al: Coronary Heart Disease Prediction From Lipoprotein Cholesterol Levels, Triglycerides, Lipoprotein(a), Apolipoproteins A-I and B, and HDL Density Subfractions The Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) Study. *Circulation* 2001; 104: 1108-1113.
- Velasco JA: Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en Prevención Cardiovascular y Rehabilitación Cardíaca. *Rev Esp Card.* 2000; 53:1095-120.

PÁGINAS DE INTERNET CONSULTADAS

- www.atherotech.com
- www.liposcience.com
- www.questdiagnostics.com
- www.roche-diagnostics.com
- <http://mcb.berkeley.edu/courses/mcb135k/outline/lipoprotein.html>
- <http://www.cholesterol-tests.com/>
- <http://www.med.unibs.it/~marchesi/lipoprot.html>
- www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3944267
- www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8656074
- www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.nutr.19.1.141
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Lipoprotein>
- <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/007262.htm>
- <http://old.nhlbi.nih.gov/chd/why1.htm>
- <http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/lipoprot/index.htm>
- <http://www.sinais.salud.gob.mx/mortalidad/index.html>
- www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/
- http://www.who.int/topics/cerebrovascular_accident/es/
- http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/
- http://www.who.int/cardiovascular_diseases/prevention_control/en/
- <http://www.roche.com/products/product-list.htm?type=diseases&id=4>