

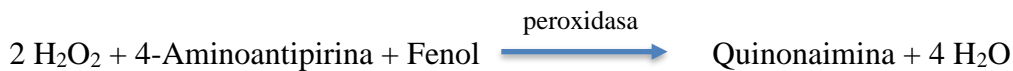
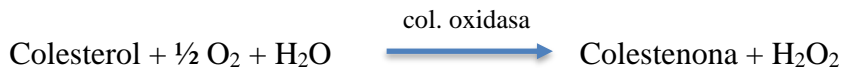
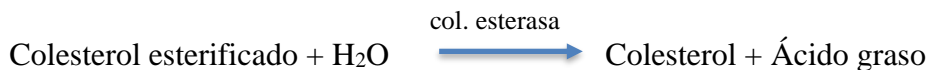
PRÁCTICA N°10:**DETERMINACIÓN DE HDL Y LDL COLESTEROL.****1. SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las HDL participan en la captación del colesterol de los tejidos y en su transporte hacia el hígado donde se elimina en forma de ácidos biliares. Existe una correlación positiva entre concentraciones bajas de HDL-colesterol en plasma y la incidencia de aterosclerosis, base del infarto de miocardio y accidentes cerebrovasculares.

Las LDL son las principales lipoproteínas que transportan colesterol hepático hacia los tejidos. Existe una correlación positiva entre concentraciones elevadas de LDL-colesterol en plasma y la incidencia de aterosclerosis, base del infarto de miocardio y accidentes cerebrovasculares

2. FUNDAMENTO

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato e iones magnesio. El sobrenadante contiene las lipoproteínas de elevada densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación.

**3. REACTIVOS**

A. Reactivo: 1 x 50 mL. Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloruro de magnesio 20 mmol/L.

S. Patrón de Colesterol HDL: 1 x 5 mL. Colesterol 15 mg/dL.

4. MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. El Colesterol HDL en suero o plasma es estable 7 días a 2-8°C. Los anticoagulantes como la heparina, EDTA, oxalato o fluoruro, no interfieren.

5. MATERIAL

- Centrífuga de sobremesa.
- Baño de agua a 37°C (opcional).
- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 500 nm.

6. PROCEDIMIENTO

1. Condiciones de ensayo:

Longitud de onda:..... 500 (490-550) nm

Cubeta:..... 1 cm paso de luz

Temperatura:..... 37°C/15-25°C

Precipitación:

1. Pipetear en un tubo de centrifuga: Muestra 0,2 mL + Reactivo (A) (kit de Colesterol HDL) 0,5 mL
2. Agitar bien y dejar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 10 minutos a un mínimo de 4.000 r.p.m.
4. Recoger con cuidado el sobrenadante.

Colorimetría:

5. Atemperar el Reactivo (kit de Colesterol total) a temperatura ambiente.
6. Pipetear en tubos de ensayo
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra	Control
R (kit de colesterol) (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µl)	-	100	-	-
Muestra (µl)	-	-	100	-
Control (µl)	-	-	-	100

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a 15-25°C.
5. Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

7. RESULTADOS

La concentración de colesterol HDL en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$A_{\text{muestra}}/A_{\text{patrón}} \times C_{\text{patrón}} \times \text{Factor de dilución de la muestra} = C_{\text{muestra}}$$

Si se utiliza para calibrar el Patrón de Colesterol HDL suministrado:

$$A_{\text{muestra}}/A_{\text{patrón}} \times 52,5 \text{ mg/dl} = C_{\text{muestra}}$$

7. VALORES DE REFERENCIA

Las concentraciones de colesterol de HDL varían considerablemente con la edad y el sexo. El siguiente valor discriminante ha sido recomendado para identificar individuos con elevado riesgo de enfermedad coronaria.

Hasta 35 mg/dL  Elevado
 > 60 mg/dL  Bajo

Cálculo de LDL-colesterol por la Fórmula de Friedewald

La fórmula de Friedewald es un método INDIRECTO que nos permite conocer la fracción LDLcolesterol (LDLc) si conocemos el colesterol total (CT), la fracción HDLcolesterol (HDLc) y los triglicéridos (TG).

El dato de (LDLc) obtenido con esta fórmula demuestra ser tres veces más sensible que el obtenido al determinarse únicamente a partir del CT.

Cómo se usa la Fórmula de Friedewald:

Conocemos que:

$$CT = LDLc + HDLc + TG/5$$

Si despejamos LDLc tenemos:

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