

PRÁCTICA N° 9: DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS.

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

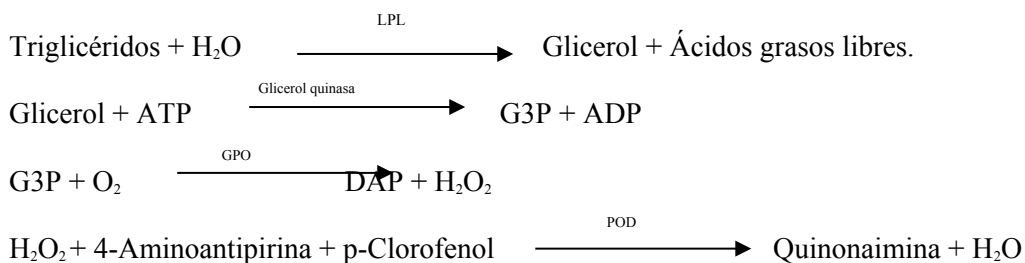
Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre. Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos. Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

2. FUNDAMENTO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenada (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada.

3. REACTIVOS

A Reactivo	4-Clorofenol Lipoprotein lipasa (LPL) Glicerol quinasa (GK) Glicerol-3-fosfato oxidasa (GPO) Peroxidasa (POD) 4 – Aminoantipirina ATP Tampón Pipes ph 7,0	6 mmol/L 150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 U/L 0,1 mmol/L 0,1 mmol/L
S Patrón	Patrón primario acuoso de Triglicéridos 200 mg/dL	

4. MUESTRAS

Suero y plasma.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C

5. MATERIAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 500 nm
- Equipamiento habitual de laboratorio.

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

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra	Control
R (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µl)	-	10	-	-
Muestra (µl)	-	-	10	-
Control (µl)	-	-	-	10

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

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 200(Conc.Patrón) = mg / dL$$

de triglicéridos en la muestra.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad (1000 mg/dL), diluir ½ con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

7. VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40-160 mg/dL

Mujeres: 35-135 mg/dL