

“Caracterización bioquímica de las dislipemias”. Técnicas empleadas

Cuantificación de lípidos y apolipoproteínas: colesterol, triglicéridos, fosfolípidos, glicerol, ácidos grasos (métodos enzimáticos), apo A-I, apo B, Lp(a) y otras apolipoproteínas (nefelometría).

Separación de lipoproteínas: ultracentrifugación; electroforesis; FPLC; precipitación selectiva.

Detección de apolipoproteínas y sus isoformas: electroforesis (PAGE, urea); enfoque isoeléctrico; inmunotransferencia.

Genotipos: PCR y digestión mediante enzimas de restricción.

Actividad de receptor LDL en linfocitos circulantes: estimulación máxima de su expresión y ensayo de la unión y captación de LDL marcadas con DiI (citometría de flujo); actividad funcional del receptor LDL en linfocitos estimulados con fitohemoaglutinina (ensayo de proliferación).

Actividad de enzimas relacionadas con la homeostasis del colesterol y de los triglicéridos: lipoproteína lipasa (LPL), lipasa hepática (HL), lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT), lipasa ácida lisosomal (LAL), lipasa sensible a las hormonas (HSL), proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) (métodos radioenzimáticos).

Biosíntesis de colesterol: incubación de células con acetato o mevalonato radiactivos y separación de los productos mediante HPLC: ácidos orgánicos (mevalónico, acetoacetato, HMG-CoA, etc.); farnesol y geranylgeraniol y otros alcoholes isoprenoides; y esteroides. Detección de la absorbancia UV (detector de diodos) y de la radiactividad.

Vitaminas lipofílicas: separación mediante HPLC y detección UV (detector de diodos) para la cuantificación de retinol, ésteres de retinol, tocoferoles, licopeno, carotenos y otros carotenoides minoritarios.