

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR**

**ESCUELA DE BIOANÁLISIS**

**DISERTACION PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIATURA EN  
BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**“Niveles de Lipoproteína a Lp(a) en individuos adultos con diabetes  
mellitus tipo 2 y su relación con factores de riesgo cardiovascular  
no lipídicos, Quito 2011”**

**Daysi Lorena Ochoa Cóndor**

**Iveth Carolina Tapia Caicedo**

**Directora: Mtr. Sandra Andrade**

**Quito, 2014**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Bioanálisis Clínico de las candidatas Daysi Lorena Ochoa Córdor e Iveth Carolina Tapia Caicedo ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. Sandra Andrade H  
Directora de la Disertación  
Quito, 16 de enero 2014

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Nosotras Daysi Lorena Ochoa Córdor CI: 1723586994 e Iveth Carolina Tapia Caicedo CI: 1721623062 autoras del trabajo de graduación titulado: **“Niveles de lipoproteína a Lp(a) en individuos adultos con diabetes mellitus tipo 2 y su relación con factores de riesgo cardiovascular no lipídicos, QUITO 2011”** previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADAS EN BIOANÁLISIS CLÍNICO** en la **Escuela de Bioanálisis:**

- A) Declaramos tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
- B) Autorizamos a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

QUITO, enero del 2014

Nombres:

Daysi Lorena Ochoa Córdor CI 1723586994

Iveth Carolina Tapia Caicedo CI: 1721623062

## DEDICATORIA

A mis padres Marianita Mercedes Córdor y Gonzalo Ochoa Andrade mi hermano Gonzalo Ochoa, y en especial a mi querida abuelita María Luisa Pichucho que desde el cielo me cuida y me protege

A todos los que siempre me apoyaron y creyeron en mí a pesar de cualquier circunstancia, gracias a todos ellos hoy estoy aquí porque sin ellos probablemente la adversidad me hubiese derrotado.

A todos los seres que amo, porque gracias a ese amor soy feliz y lucho para que pueda hacer de este un mundo mejor.

## AGRADECIMIENTOS

La presente disertación es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Agradezco a la Mtr. Sandra Andrade por haber confiado en mí, por la paciencia y por la dirección de este trabajo

Gracias también a mis queridos padres Mariana Cóndor y Gonzalo Ochoa a mi hermano Gonzalo Ochoa que me ayudaron hasta el final de este reto.

A mis queridos profesores de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en especial a la Lic. Lucía Ulloa además a mis amigas y amigos, que me acompañaron y me apoyaron en esta aventura que significó mi carrera y que, de forma incondicional, entendieron mis malos momentos y me acompañaron en los buenos.

Gracias a todos.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	x
ÍNDICE DE IMÁGENES .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	
1.1 OBJETIVOS .....	
1.2 Objetivo general.....	
1.3 Objetivos específicos.....	
1.4 Hipótesis de la investigación.....	
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 ANTECEDENTES.....	
2.2 ASPECTOS GENERALES DE LA Lp(a).....	
2.2.1 Epidemiología.....	
2.2.3 Características de la Lp(a).....	
2.2.3.1 Propiedades fisicoquímicas.....	
2.2.3.2 Estructura de la Lp(a) .....	
2.2.3.3 Genética de la Lp (a) y del plasminógeno .....	
2.2.3.4 Síntesis y metabolismo de la Lp(a) .....	
2.2.3.5 Regulación de la concentración de la Lp(a) sérica .....	

2.3	DIABETES MELLITUS TIPO 2 .....	
2.3.1	Etiología .....	
2.3.2	Fisiopatología de la Diabetes Mellitus tipo 2 .....	
2.4	DESORDEN DE LA CONCENTRACIÓN DE Lp(a) EN EL PACIENTE DIABÉTICO .....	
2.4.1	Lp(a) y obesidad relacionada con IMC y CC .....	
2.4.2	Lp(a) y presión arterial.....	
2.4.3	Lp(a) edad y género.....	
2.4.4	Otros mecanismos de acción de la lipoproteína(a) .....	
CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO.....		
3.1	TIPO DE ESTUDIO.....	
3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	
3.3	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO .....	
3.4	OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN Y TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA .....	
3.4.1	Obtención de la información socio demográfica.....	
3.4.2	Obtención de la información de las medidas antropométricas y otras .....	
3.4.3	Obtención de la muestra sanguínea.....	
3.5	ANÁLISIS EN EL LABORATORIO .....	
3.5.1	Fraccionamiento de lipoproteínas [colesterol Lp(a)] .....	
3.5.1.1.	<i>Equipos y materiales para la electroforesis en gel</i> .....	
3.5.1.2.	<i>Reporte de resultados de la electroforesis</i> .....	
3.6	MANEJO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS .....	
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....		
4.1	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA .....	
4.1.1	Distribución de la muestra por género y edad .....	
4.1.2	Características de las variables no lipídicas en la muestra de diabéticos .....	
4.1.3	Factores de riesgo cardiovascular no lipídicos (IMC, CC, PAS) en la muestra de diabéticos tipo 2.....	

4.1.4 Niveles de glucosa sérica.....	
4.1.5 Niveles de Lp (a) sérica.....	
4.2 RELACIÓN DE Lp(a) CON FRCV NO LIPÍDICOS .....	
4.2.1 Relación de niveles de colesterol transportados por Lp(a) de acuerdo al grupo etario y género.....	
4.2.2 Relación entre la Lp(a) y los FRCV .....	
DISCUSIÓN .....	
CONCLUSIONES.....	
RECOMENDACIONES .....	
BIBLIOGRAFÍA .....	

## ÍNDICE DE TABLAS

3.1	Analitos determinados en las muestras sanguíneas.....	30
3.2	Reactivos y materiales usados para la electroforesis.....	31
4.1	Estadística descriptiva para variables no lipídicas .....	38
4.2	Niveles de glucosa sérica por género y en toda la muestra .....	44
4.3	Estadística descriptiva de la Lp(a) dividida por género y grupo etario .....	46
4.4	Comparación de los niveles de Lp(a) por grupo etario .....	48
4.5	Comparación de los niveles de Lp(a) por género.....	48
4.6	Asociación de Lp(a) en diabéticos tipo 2 y glucosa sérica .....	49
4.7	Regresión logística multivariada para Lp(a) y FRC (CC IMC y PAS) .....	50

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

4.1 Distribución de la muestra por género.....	37
4.2 Distribución de la muestra por grupo etario.....	38
4.3 Distribución de normotensos e hipertensos en la muestra y por género.....	39
4.4 Distribución de normotensos e hipertensos por grupo etario.....	40
4.5 Frecuencia de normopesos y obesos (IMC) en la muestra y por género.....	41
4.6 Frecuencia de normopesos y obesos (IMC) por grupo etario.....	41
4.7 Porcentaje de obesidad central de acuerdo a CC.....	42
4.8 Distribución de CC como FRCV por grupo de edad y por género.....	43
4.9 Niveles de glucosa sérica en ayunas en pacientes con DM.2.....	44
4.10 Distribución de niveles de glucosa sérica de acuerdo a nivel de riesgo y por género.....	45
4.11 Lp(a) distribuida por nivel de RCV en la muestra y por género.....	47

## ÍNDICE DE IMÁGENES

2.1 Migración electroforética de lipoproteínas séricas.....	11
2.2 Diferencia estructural de Lp(a) y LDL.....	12
2.3 Homología estructural entre Lp(a) y plasminógeno.....	13
2.4 Estructura de los genes de la Lp(a) y el plasminógeno.....	14
2.5 Representación esquemática de la vías propuestas para la síntesis y metabolismo de Lp(a).....	16
2.6 Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo-2.....	19
3.1 Medición de la CC.....	27
3.2 Extracción de muestra sanguínea.....	28
3.3 Separación del suero obtenido.....	29
3.4 Kit de reactivos y cámara electroforética.....	31
3.5 Electroforesis de Lp(a) paciente con nivele elevado de Lp(a).....	32
3.6 Electroferograma de paciente con nivele elevado de Lp(a).....	33
3.7 Electroforesis de suero sin Lp(a).....	33
3.8 Electroferograma de suero sin Lp(a).....	34
3.9 Electroferograma del control de calidad usado.....	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

1 Consentimiento informado.....	65
2 Datos socio-demográficos y clínicos .....	66
3 Antecedentes patológicos familiares y personales.....	67
4 Procedimientos para la toma de medida antropométricas .....	68
5 Medición de circunferencia de cintura .....	72
6 Procedimiento para la venopunción .....	74
7 Técnica para la electroforesis de lipoproteínas .....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADNc:</b>	Ácido desoxirribonucleico complementario
<b>ALAD :</b>	Asociación Latinoamericana de Diabetes.
<b>apo B:</b>	Apolipoproteína B
<b>apo(a):</b>	Apolipoproteína a
<b>ATPIII:</b>	Adult Treatment Panel III (Guía de tratamiento en adultos)
<b>CC:</b>	Circunferencia de cintura
<b>c-HDL:</b>	Colesterol de la lipoproteína de alta densidad
<b>c-LDL:</b>	Colesterol de la lipoproteína de alta baja densidad
<b>C-Lp(a):</b>	Colesterol de la lipoproteína a
<b>cm:</b>	Centímetros
<b>c-VLDL:</b>	Colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad
<b>DM-2:</b>	Diabetes Mellitus tipo 2
<b>ECV:</b>	Enfermedad cardiovascular
<b>FRCV:</b>	Factores de riesgo cardiovascular
<b>IMC:</b>	Índice de masa corporal
<b>kg/m<sup>2</sup>:</b>	Kilogramo sobre metro cuadrado
<b>LDL:</b>	Lipoproteína de baja densidad (lipoprotein low density)
<b>Lp(a):</b>	Lipoproteína a
<b>m<sup>2</sup>:</b>	Metro cuadrado
<b>mg/dL:</b>	miligramos sobre decilitro
<b>mmHg:</b>	milímetros de mercurio
<b>MSP:</b>	Ministerio de Salud Pública
<b>PAS :</b>	Presión arterial sistólica
<b>PUCE:</b>	Pontificia Universidad Católica de Ecuador
<b>SENESCYT:</b>	Secretaria Nacional de Educación Superior Ciencia , Tecnología e Innovación
<b>VLDL:</b>	Lipoproteína de muy baja densidad (lipoprotein very low density)

## RESUMEN

Para determinar si existe relación entre las concentraciones séricas de la Lp(a) , medida a través de su contenido en colesterol [ C-Lp(a)], con factores de riesgo cardiovascular como obesidad, obesidad central, presión arterial y glucosa sérica en ayunas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) , se estudiaron estas variables en 195 pacientes, hombres y mujeres, de 40 a 70 años de edad con diagnóstico previo de DM-2 que son atendidos en las Asociaciones de Diabéticos de la ciudad de Quito.

En la muestra investigada se presentó obesidad en el 74.4% de pacientes y obesidad central (determinada por la circunferencia de la cintura) en el 72.9 % para el grupo de hombres, siendo superior en las mujeres con el 93.2% .El porcentaje de pacientes con presión arterial sistólica sobre 140 mm Hg fue del 15.7% siendo más frecuente en los hombres. En cuanto a los niveles de glucosa en ayunas se encontró que el 35.4% de la muestra presentaron valores mayores a 126 mg/dL, dentro de este mismo grupo se observó hipoglucemia en el 8.7% de los pacientes.

El nivel sérico de C-Lp(a) fue superior o igual a 2.5 mg/dL en 21.0% de los pacientes, con porcentajes similares para hombres y mujeres; en el 1.4% de las mujeres con valores superiores a 30 mg/dL. Al relacionar las concentraciones séricas de C-Lp(a) con las otras variables como edad y sexo no hubo diferencias estadísticamente significativas (Kruskal – Wallis,  $p = 0.059$  y Mann Whitney,  $p= 0.084$  respectivamente). Al aplicar una regresión logística multivariada para C-Lp (a) y IMC, circunferencia de la cintura y presión arterial sistólica y  $\chi^2$  (para datos no paramétricos) para glucosa sérica en ayunas, se detectó únicamente una relación estadística moderada y positiva con la dos últimas ( $p = 0.05$ ).

De los resultados obtenidos se concluye que los pacientes diabéticos presentan más de un factor de riesgo cardiovascular y la asociación de hiperglucemia, dislipidemias, obesidad e hipertensión arterial llevan al paciente a ser diagnosticado por síndrome metabólico, con un pronóstico poco favorable, además la presencia de concentraciones de Lp(a) sobre los 2,5 mg/dL aumenta en un 10 a 30 % la posibilidad de sufrir complicaciones crónicas a nivel cerebral y cardiovascular, tomando en cuenta que el aumento de glucosa y presión arterial presentan relación con las concentraciones de Lp(a). La determinación de esta lipoproteína por parte del laboratorio junto con los factores de riesgo convencional contribuye significativamente con la clasificación del tipo de riesgo aterotrombogénico.

Palabras clave: Lipoproteína (a) [Lp(a)], factores de riesgo cardiovascular no lipídicos (Obesidad (IMC), obesidad central (circunferencia de cintura), presión arterial sistólica y glucosa en ayunas)

## ABSTRACT

To determine the correlation between serum Lp (a), measured through its cholesterol content [C-Lp (a)], with cardiovascular risk factors as obesity, central obesity, blood pressure and serum glucose fasting in patients with diabetes mellitus type 2 (DM-2) these variables were studied in 195 patients, men and women, 40 to 70 years old with a previous diagnosis of DM-2 are treated in the Associations of diabetic city Quito.

In the sample investigated obesity occurred in 74.4% of patients and central obesity (measured by waist circumference) at 72.9% for the group of men, being higher in women with 93.2%. The percentage from patients with systolic blood pressure over 140 mm Hg was 15.7% it is more frequent in men. As for fasting glucose levels found that 35.4% of the sample showed higher values at 126 mg / dL, within the same group of hypoglycemia was observed in 8.7% of patients.

The serum level of C-Lp (a) was greater than or equal to 2.5 mg / dL in 21.0% of patients, with similar percentages for men and women, and in 1.4% of women above 30 mg / dL values. Relating serum C-Lp (a) with other variables such as age and sex were not statistically significant (Kruskal - Wallis,  $p = 0.059$  and Mann Whitney,  $p = 0.084$  respectively) By applying a multivariate logistic regression C-Lp (a) and BMI, waist circumference and systolic blood pressure and  $\chi^2$  (for nonparametric data) for fasting serum glucose was detected only a moderate and positive statistical relationship with the latter two ( $p = 0.05$ )

Of the results obtained it is concluded that diabetic patients have more than one cardiovascular risk factor and the association of hyperglycemia, dyslipidemia, obesity and hypertension lead to the patient being diagnosed metabolic syndrome with a poor prognosis, besides the presence of concentrations of Lp (a) about 2.5 mg / dL increased by 10 to 30% chance of getting chronic cardiovascular complications and cerebral level, taking into account that the increase in glucose and blood pressure have a relationship with concentrations of Lp (a). As the determination of this lipoprotein by the laboratory along with conventional risk factors contribute significantly to the classification of the type of atherothrombogenesis risk.

Keywords: Lipoprotein (a) [Lp (a)] factors not lipidic for cardiovascular risk (obesity (BMI), central obesity (waist circumference), systolic blood pressure and fasting glucose)

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2) es considerada como la enfermedad crónica de mayor impacto a nivel socio-sanitario. Según la Federación Internacional para la Diabetes (IDF, International Diabetes Federation), la prevalencia de la DM-2 se incrementará de 246 millones de personas en el 2007 a 308 millones para el 2025, es decir el 25% de incremento a nivel mundial. (Pagana & T, 2006)

En el Ecuador, ocupa el primer lugar como causa de muerte entre las principales enfermedades crónicas (el 5,8% en el 2008); de acuerdo al género, se constituye la segunda causa de muerte en mujeres y sexta en los hombres, de todas las posibles causas de enfermedad. (Cifuentes B. A., 2009)

La morbilidad y mortalidad de los pacientes con DM-2 a nivel mundial se encuentran asociadas con enfermedad cardiovascular (ECV), cerebrovascular y enfermedad vascular periférica entre cuyas consecuencias está el infarto agudo al miocardio, de tal manera que “The American Heart Association considera a la DM-2 no solo como un simple factor Independiente de riesgo, sino como una «verdadera enfermedad cardiovascular»” (Sanchez Recaldea & Kaskia, 2011), sin contar con la presencia de concentraciones altas de la Lp(a), que elevaría mucho más el riesgo.

Las Asociaciones Internacionales para la diabetes publican de forma frecuente los resultados de estudios y consensos para el diagnóstico, manejo y control del paciente diabético, en las que se pone énfasis en el control y reducción de los factores de riesgo que conducen a la

aparición de una enfermedad cardio y cerebro vascular, que afectan tanto al cuadro diabético como al desarrollo de una enfermedad cardiovascular, entre estos se encuentran: el tabaquismo, obesidad central, la resistencia insulínica y la hipertensión estos últimos relacionados con la concentración sérica de Lp(a) que manejan este tipo de pacientes (Kostner, Avogadro, & Cazzolato, 1981).

La Lp(a) presenta una estructura muy similar a la del plasminógeno lo que le confiere propiedades aterogénicas, adhiriéndose a las paredes vasculares y permitiendo que el colesterol sea fagocitado por los macrófagos, conduciendo a elevar el riesgo de enfermedad cardiovascular, determinante en este tipo de pacientes debido a la falla metabólica en el transporte de lípidos y el estilo de vida que llevan. (Brandan, Llanos, Barrios, Escalante Marassi, & Ruiz Diaz, 2006)

En base a los antecedentes encontrados y la revisión bibliográfica previa a este estudio, se determinó que la prevalencia de enfermedades cardiovasculares y trombogénicas, asociada con la obesidad, la hipertensión, el hábito tabáquico, las hiperlipidemias y sobre todo la resistencia insulínica que presentan la mayoría de los pacientes diabéticos, ha llevado a que la morbi-mortalidad por daño cardíaco o trombogénico aumente. (Lebovitz, 2000), por lo que varias investigaciones se han centrado en la búsqueda de nuevos factores y marcadores bioquímicos que permitan el diagnóstico precoz de un evento cerebrovascular, cardiovascular y trombogénico y en la prevención de este tipo de padecimientos. Un marcador bioquímico estudiado desde hace unos diez años es la Lp(a), tanto en grupos de personas que se encuentran en mayor riesgo de sufrir un daño cardíaco, como en la población en general; incluyendo en el primer grupo a las personas diabéticas por los daños crónicos que causa esta enfermedad a largo plazo.

En el estudio internacional "The Prospective study of lipoprotein(a) as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease in patients with diabetes" se determinó que el aumento de Lp(a) sérica y la relación que presenta esta lipoproteína ligada a factores como: obesidad central, hipertensión, y resistencia a la insulina, tiende a aumentar el riesgo de sufrir un evento cardiovascular en un 10 a 30%". (Higara, Kobayashi, Okubo, Nakanishi, Sugimoto, & Ohashi, 1995) y en otros estudios se consideró que la Lp (a) es un factor de riesgo aterogénico importante unido a la disminución de la disolución de coágulos sanguíneos y

consecuentemente a su contribución a sufrir un ataque cardíaco. (Sorrell Gómez, Bermúdez, Fernando, Bermúdez, Valmore, & Rojas, 2007).

En nuestro país son muy pocos los estudios sobre Lp(a) y diabéticos, así como la relación existente entre esta lipoproteína y otros factores de riesgo para ECV. Por otro lado, los laboratorios clínicos no ofrecen la determinación de Lp(a) puesto que en la actualidad el uso de esta no es muy común por parte de los médicos tratantes de este tipo de pacientes; sin embargo los fabricantes de reactivos, para diagnósticos *in vitro* han puesto a disposición desde hace algunos años la técnica de electroforesis en gel para el fraccionamiento de lipoproteínas y la dosificación del colesterol contenido en estas, técnica evaluada como precisa, exacta y que da la posibilidad de conocer el colesterol contenido en la Lp(a).

Considerando estos antecedentes se plantea la presente investigación, que se centran en la detección de Lp(a) sérica en pacientes diabéticos tipo 2 atendidos en las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes, midiendo el colesterol de esta lipoproteína luego de la electroforesis en gel y relacionando su concentración con otros factores de riesgo para enfermedad cardiovascular (ECV) como: índice de masa corporal(IMC), presión arterial sistólica (PAS), circunferencia de la cintura (CC) y niveles de glucosa sérica en ayunas, para establecer un mejor control en el estilo de vida de los pacientes diabéticos, que lleve a reducir los niveles de Lp(a) y por lo tanto el riesgo de sufrir un daño cardíaco o trombogénico. Con los resultados obtenidos se espera que los médicos tratantes se interesen en el valor de la cuantificación de la Lp(a) como indicadores de daño cardíaco o alteración trombogénica precoz en diabéticos tipo 2 para disminuir la mortalidad que implica esta afección y el costo de atención médica.

El estudio se realizó gracias a la colaboración de los directivos de la Federación Ecuatoriana de Diabetes y sus respectivas Asociaciones ubicadas en los hospitales Pablo Arturo Suarez y Hospital General de las Fuerzas Armadas, a los cuales acuden alrededor de 600 pacientes diabéticos para tratamiento y control; además la participación y el apoyo decidido por parte de las autoridades de la Escuela de Bioanálisis y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Los resultados de la presente investigación estarán a disposición de los

especialistas médicos y de carreras afines que se encuentren autorizados, siendo el mayor anhelo la investigación de los riesgos enunciados en los pacientes diabéticos.

Esta disertación se basa en los datos obtenidos en el proyecto de investigación auspiciado y financiado por la PUCE y realizado en el año 2011 en los laboratorios de la Escuela de Bioanálisis: "Fraccionamiento de lipoproteínas séricas por electroforesis en gel de agarosa en pacientes diabéticos", en el que participaron las disertantes del presente estudio.

El trabajo se presenta en seis capítulos, el primer capítulo trata los aspectos preliminares del estudio incluyendo los objetivos y la hipótesis de la investigación.

El capítulo dos resume el estado actual del conocimiento sobre la Lp(a) y su relación con la DM-2 y otros factores de riesgo cardiovasculares no lipídicos.

El capítulo tres expone el marco metodológico detallando la población, muestra, variables estudiadas y los procedimientos tanto para el análisis de muestras biológicas como la recolección de datos sociodemográficos y medidas antropométricas, así como para el análisis estadístico de esta información.

En el capítulo cuatro se sintetizan los resultados obtenidos en este estudio resaltando los hallazgos más destacados del análisis estadístico descriptivo e inferencial.

En el capítulo cinco se realiza la comparación respectiva de los resultados del presente estudio con aquellos discutidos en la literatura académica y su explicación en el marco del contexto teórico.

En el capítulo seis se presentan las conclusiones con una interpretación de forma sintética para dar respuesta al problema, objetivos e hipótesis planteadas así como las implicaciones de este trabajo.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo general**

- Determinar los niveles de Lp(a) y la relación existente con los factores de riesgo cardiovasculares no lipídicos en individuos adultos con DM-2 pertenecientes a las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes en Quito – 2011.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Establecer la concentración de colesterol en la Lp(a) sérica, separada por electroforesis en gel, en pacientes con DM-2 pertenecientes a las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes Quito – 2011, de acuerdo al género y grupo etario.
- Especificar la relación entre el nivel de glucosa sérica y Lp(a) en pacientes con DM-2 pertenecientes a las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes en Quito– 2011.
- Relacionar la obesidad (determinada por índice de masa corporal y circunferencia de cintura) y la presión arterial sistólica con el nivel de colesterol presente en la Lp(a) en pacientes con DM-2 pertenecientes a las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes en Quito – 2011.

## **1.2 Hipótesis de la investigación**

- Niveles de Lp(a) séricos encontrados en pacientes diabéticos tipo 2 de las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabetes, agrupados por género y en la muestra en general tienen relación con los factores de riesgo cardiovascular como: Índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, presión arterial y glucosa en ayunas.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ANTECEDENTES**

Según el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP) en el año 2008 se presentó 43.285 casos de diabetes en el país, para el 2009 el número de casos aumentó a 68.355, con una tasa anual de incidencia de 200 casos registrados al año por 100.000 habitantes. (Chiriboga, Jara, Moreno, & Estrella, 2011). Por esta razón se ubicó a la DM-2 como la principal causa de muerte tanto en hombres y mujeres dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles. (Organización Mundial de la Salud OMS para Ecuador 2011). En la provincia de Pichincha la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 fue del 217,19 % por 1.000 habitantes. (Chiriboga, Jara, Moreno, & Estrella, 2011).

A nivel latinoamericano, desde hace dos años se han realizado investigaciones en las que se relacionan Lp(a) con factores de riesgo cardiovascular como IMC, circunferencia de la cintura y presión arterial sistólica en la población en general y en pacientes con diabetes mellitus tipo-2. A continuación se exponen algunas de las conclusiones de los trabajos realizados en esta área:

- En Costa Rica se realizó un estudio acerca del tratamiento con hipolipemiantes en enfermedad cardiovascular, se tomó en cuenta la DM-2 como factor independiente para ECV y la presencia de Lp(a) sérica, concluyendo que el diabético obeso y con PAS tenía una ligera relación positiva con índices elevados de Lp(a) en comparación con diabéticos controlados. (Gonzales & Pereira, 2009).
- El trabajo de Enríquez y colaboradores (2008), en Alcántara, analizó la Lp(a) y factores modificables de la concentración de la misma, indicando que la DM-2 por si sola modifica la concentración sérica de Lp(a) y que en el paciente con obesidad abdominal, glucosa elevada e hipertenso tiende a presentar un aumento en la concentración de Lp(a). (Enriquez & Matas, 2008).
- Otro estudio realizado en La Habana–Cuba sobre Lp (a): trombogénesis y aterogénesis, concluyó que la Lp (a) es un factor genético heredado de mayor riesgo para la aterosclerosis debido a la presencia de la apo a, que es estructuralmente similar al plasminógeno lo que le confiere capacidad para unirse con la fibrina provocando un efecto aterotrombogénico. (Hadad Nasiff & Anglés-Cano, 1997)
- Gorban y colaboradores en Corrientes Argentina (2003 – 2006) investigó la incidencia de enfermedad cardiovascular en 56 pacientes, hombres y mujeres diagnosticados con DM–2, en los cuales se analizaron variables como: género, edad, índice de masa corporal, medidas de tensión arterial, cifras de glucemia y tratamiento farmacológico. Se calculó la prevalencia de enfermedad coronaria (EC) en pacientes con DM-2 a través de los porcentajes de cada variable e intervalos de 95% de confianza (IC95%). Concluyeron que la frecuencia de ECV asociada a DM-2 fue del 39%, siendo más frecuente en mujeres a partir de los 50 años, también se presentó una relación significativa positiva entre niveles séricos altos de Lp(a) y personas con IMC > 25kg/m<sup>2</sup> (Gorban de Lapertosa, Fernandes Ovando, Aguirre, Aquino, & Araóz Olivos, 2010).
- En Sao Paulo, Brasil (2009), se estudiaron 60 pacientes con diagnóstico previo de DM-2; el objetivo de esta investigación fue determinar en pacientes diabéticos la

relación entre los niveles basales de insulina, lípidos y Lp(a), basándose en dos hipótesis: “La resistencia a la insulina se correlaciona mejor con anomalías metabólicas y está ligada al desarrollo de la enfermedad cardiovascular en pacientes con DM-2”. “La hiperinsulinemia junto con la resistencia a insulina han sido asociadas a la enfermedad arteria coronaria (EAC), la DM-2, la dislipidemia e hipertensión, proponiendo que la resistencia a la insulina es un factor de riesgo independiente para EAC” llegando a la conclusión de que la resistencia a la insulina provoca en los tejidos una inadecuada acción lipogénica favoreciendo la obesidad abdominal, producción a nivel hepático de triglicéridos con liberación de VLDL y por consiguiente al desarrollo de dislipidemias en cuanto a la Lp(a) los niveles séricos presentaron una correlación inversa con los niveles de insulina (Barre, 2003)

- La investigación de Syed y Abdul (2009), concluyó que la frecuencia de los niveles de Lp(a) considerados de alto riesgo era mucho mayor en pacientes con DM-2 que en aquellos pacientes que aparentemente no presentaron ningún síntoma de posible diabetes ni de ECV, la DM-2 estuvo asociada al disturbio lipídico aterogénico y a una relación insulina/glucosa de ayuno alta, por esta razón los niveles de Lp(a) evidenciaron una correlación inversa con los niveles de insulina pudiendo ser la Lp(a) uno de los factores de riesgo cardiovascular importantes en pacientes con DM-2 que presentan una mayor duración de la enfermedad.(Syed & Abdul, 2009).
- En estudios anteriores donde se investigó la relación de Lp(a) y factores de riesgo no lipídicos para el desarrollo de enfermedad aterosclerótica, se tomó en cuenta a tres poblaciones distintas que fueron: sujetos jóvenes, pacientes con dislipoproteinemia y pacientes con diagnóstico de hipopituitarismo, encontrándose que la concentración de Lp(a) fue alta y que presentaba una relación significativa y positiva con factores de riesgo no lipídico : índice de masa corporal(IMC), presión arterial sistólica (PAS) y circunferencia de la cintura (CC). En base a estos datos se usó una población con diagnóstico de DM-2 y se encontró que la relación de Lp(a) con los factores no lipídicos anteriormente mencionados era ligera pero positiva sin embargo para esta población se tomó en cuenta un factor más que fue los niveles séricos de glucosa en ayunas, en este caso la relación fue significativa y positiva en cuanto a la concentración sérica de Lp(a) y glucosa. (Pereira, 2010).

- Al investigar la relación entre la concentración de Lp(a) y la de glucosa sérica en población diabética, algunos estudios indican que a mayor concentración de glucosa mayor será la concentración de Lp(a) sérica, siempre que los niveles de glucosa sean mayores a 126 mg/dl por esto la relación encontrada es positiva. En cuanto a las variables no lipídicas se encontró que a mayor presión arterial y obesidad abdominal los niveles séricos de Lp(a) fueron más altos. En cuanto a fumadores la relación encontrada no fue tan significativa ya que los niveles de Lp(a) no presentaron mucha variación entre la población de diabéticos que fuman y los que no lo hacen. (Hadad Nasiff & Anglés-Cano, 1997)

## **2.2 ASPECTOS GENERALES DE LA Lp(a)**

La Lp(a) fue aislada por Kare Berg en el plasma humano en 1963, por inmunodifusión, al estudiar las variantes genéticas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). (Jane, Schultz, & Shreffler, 2002), ya que esta lipoproteína comparte características estructurales con la LDL en cuanto a su composición lipídica y a la presencia de la apo100 en su estructura. (Berg, 1994).

Actualmente esta partícula es objeto de gran interés, ya que diversos estudios la asocian con un riesgo aumentado de padecer enfermedad vascular coronaria y cerebral. (Bermudez, Pirela, Cabrera de Bravo, Mengual Moreno, & Cano Ponce, 2007)

### **2.2.1 Epidemiología**

Considerando que en el 2010 la Lp(a) fue reconocida por la Asociación Europea de Ateroesclerosis como un factor predictivo para enfermedad cardiovascular a pesar de que esta lipoproteína fue aislada hace más de 40 años, aún no se conoce bien el origen y los factores biológicos o ambientales que desencadenan un aumento de los niveles séricos de esta lipoproteína. (Nordestgaard, 2010). Sin embargo hay ciertas condiciones que pueden llevar a un aumento de la Lp(a). Se conoce que los niveles de Lp(a) no se modifican significativamente con la edad, por lo que en recién nacidos los niveles de Lp(a) son bajos,

aumentado hasta 2,5 mg/dl al llegar a los dos años, manteniéndose esta concentración durante toda la vida. (Francisco & Chacon, 2002). Pero los niveles de Lp(a) pueden estar influenciados por el cambio de estilo de vida, en especial el aumento del consumo de grasas saturadas, el tabaquismo y el sedentarismo causando un aumento de los niveles séricos de esta lipoproteína. (Kostner, Avogadro, & Cazzolato, 1981).

Tomando en cuenta el género, los niveles de Lp(a) no se modifican, pero los estudios realizados revelan que en mujeres menopáusicas estos aumentan significativamente por la ausencia de estrógenos y que podrían disminuir al usar una terapia hormonal de remplazo, aunque no siempre disminuyen a niveles menores o iguales a 2,5 mg/dl. (Bermudez, Pirela, Cabrera de Bravo, Mengual Moreno, & Cano Ponce, 2007).

En la población diabética, las mismas condiciones mencionadas anteriormente pueden influir en el aumento del 10 a 30% más los niveles de Lp(a), (Enriquez & Matas, 2008), volviéndose más crítica en pacientes con IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup>, glucosa basal elevada, resistencia a la insulina y presencia de hiperlipidemia, condiciones que hacen que los niveles de Lp(a) se vuelvan aterogénicos. (Francisco & Chacon, 2002).

### **2.2.3 Características de la Lp(a)**

#### *2.2.3.1 Propiedades fisicoquímicas*

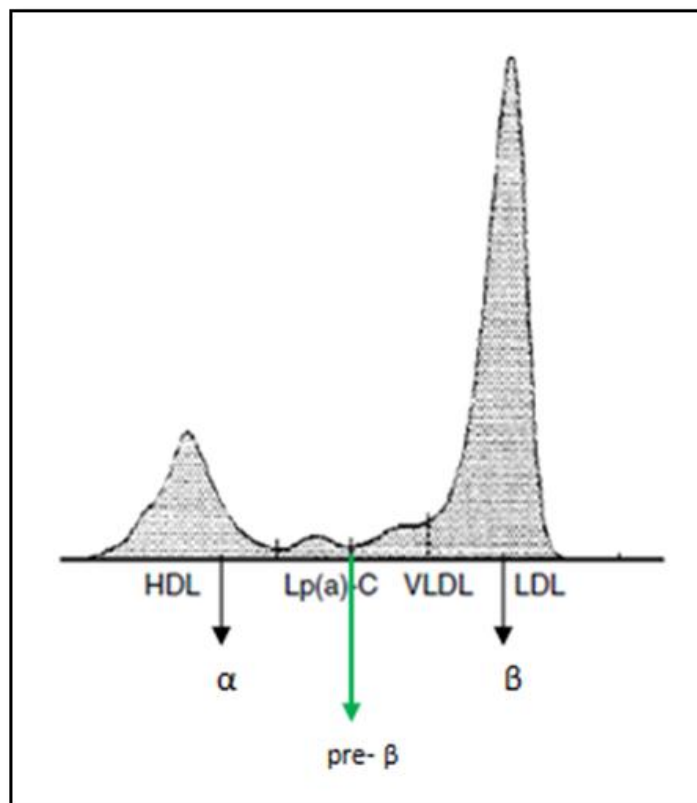
El diámetro y peso molecular de la Lp(a) es de 210 a 262 Å y de 4,66 – 5,6 x 10<sup>6</sup> daltons respectivamente. (Lazaro, Zayas, Pereira Roca, & Aguilar Betancurt, 2003). Dentro del espectro del plasma humano la densidad de la Lp(a) se encuentra entre 1,070 - 1,090 mg/dL, esta variación se deben al contenido diferente de apo (a). (Barre, 2003).

La Lp(a) en una electroforesis de gel de agarosa migra a nivel pre-β a la misma distancia de la VLDL (Barre, 2003), sin embargo a pesar de tener similitud con partículas de LDL la migración es más rápida en el caso de Lp(a) debido a la presencia de la apo(a), por el alto contenido de ácido siálico, característica que permite el aumento de la carga de la partícula

permitiéndole de esta manera la unión a cationes divalentes y la unión con iones de calcio. (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007). (Imagen No 2.1)

Una de las propiedades físicas particulares de la Lp(a) es su capacidad de agregación cuando está presente en altas concentraciones (> 5-10 mg/dL), debido al resultado de la actividad esterolítica y proteolítica que tienen esta partícula. (Haralampos, Milionis, Winder, & Dimitri, 2000)

Imagen No. 2.1 Migración electroforética de lipoproteínas séricas

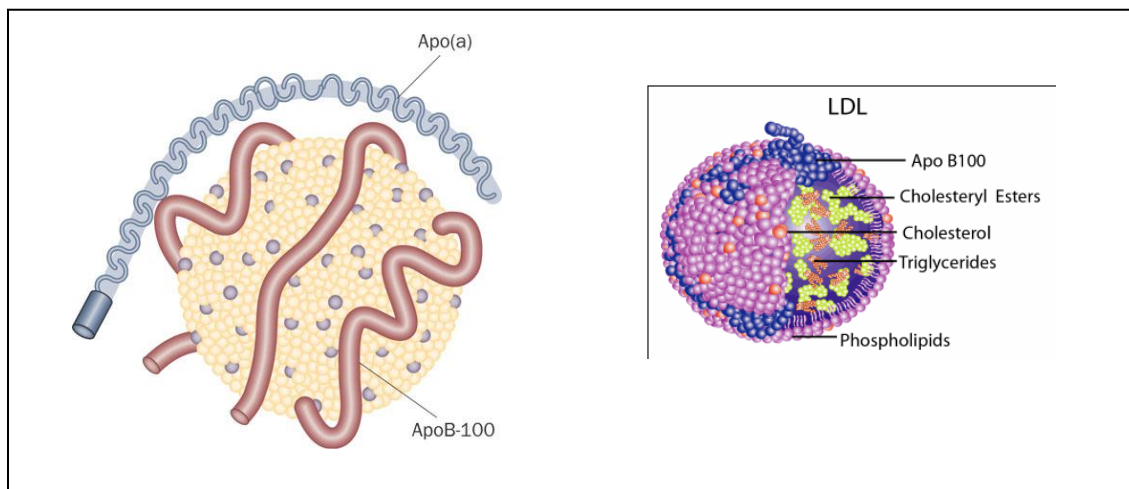


Tomado de: Cimimo Jr 2011

### 2.2.3.2 Estructura de la Lp(a)

La Lp(a) es una lipoproteína de conformación esférica, compuesta por un 27% de proteínas, 8% de hidratos de carbono y un 65% de lípidos siendo rica en ésteres de colesterol y fosfolípidos (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007). Su estructura es similar a la LDL con variación en el tipo de apoproteínas, la Lp(a) posee apo (a) unida de forma estable por la presencia de un puente disulfuro entre la apo(a) y la apo B -100. (Gevara, Knapp, Honda, Northup, & Morrisset, 1992) (Imagen N.2.2)

Imagen No 2.2 Diferencia estructural de Lp(a) y LDL



Fuente: Tomado de: Danesh y Sebhat, 2009

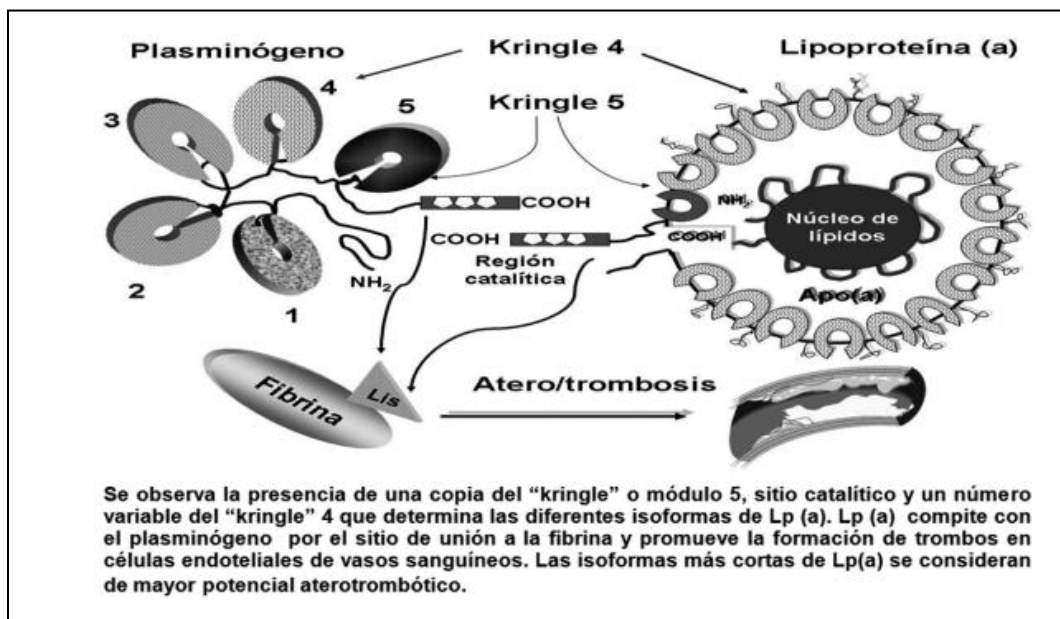
La apolipoproteína a, tiene un peso molecular de 400 a 800 kDa, (Brandan, Llanos, Barrios, Escalante Marassi, & Ruiz Diaz, 2006) formada por un número variable de aminoácidos, aproximadamente de 3.600 a 7.200, entre los aminoácidos más importantes y en mayor concentración están: la treonina, prolina, arginina, serina y glicina, que permiten que esta apoproteína presente una configuración beta, además la serina y la treonina proporcionan a esta partícula sitios de glicosilación. (Lazaro, Zayas, Pereira Roca, & Aguilar Betancurt, 2003).

Una de las características más importantes de la apo(a) es su gran parecido con el plasminógeno, con una homología del 94%. (Gevara, Knapp, Honda, Northup, & Morrisset,

1992). En la molécula de plasminógeno se encuentra un dominio serin-proteasa y una copia de cinco estructuras en triple lazo estabilizadas por enlaces disulfuro denominadas kringles (KI al KV), de los cuales el kringle IV es importante porque contiene los sitios de unión con la lisina que es la responsable de la interacción con la fibrina. (Rodríguez, 2007) (Imagen N.2.3)

En cuanto a la apo(a) presenta diez copias parecidas al kringle IV del plasminógeno denominadas T1 a T10 de las cuales el kringle T10 de la apo (a) es el más parecido al kringle IV, pues este contiene todos los aminoácidos considerados importantes para la unión a los residuos de lisina ubicados en la fibrina y en los receptores de células mononucleares y endoteliales. (Lackner, Boerwinkle, Leffert, Rahiming, & Hobbs, 1991); pese a la similitud estructural que tiene la apo(a) con el plasminógeno, la sustitución del aminoácido serina por arginina en el sitio de activación de kringle T10 le impide la unión a la lisina y por ende la activación de la plasmina para poder eliminar el coagulo formado.(Enriquez & Matas, 2008) (Imagen N.2.3).

Imagen N.-2.3 Homología estructural entre Lp(a) y plasminógeno



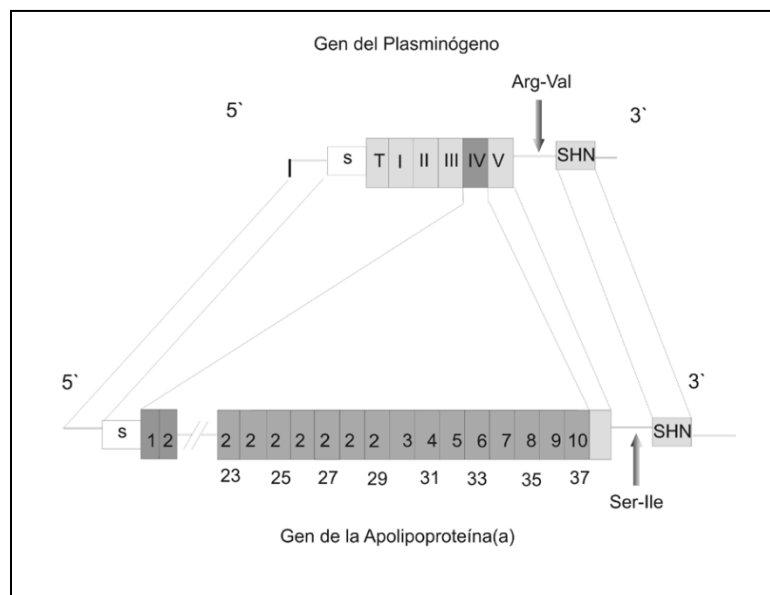
Tomado de: Rodríguez, 2007

### 2.2.3.3 Genética de la Lp(a) y del plasminógeno

Desde 1987, gracias al clonaje y a la secuenciación del ADN complementario de la apo(a), se encontró que el gen que codifica a esta partícula está localizado en la región cromosómica 6q, cercana al gen que codifica al plasminógeno ubicado en el mismo cromosoma y que al tener el mismo origen genético se produce la homología estructural de la Lp(a) con el plasminógeno, especialmente porque en la región 6q se encuentran dominios de serin proteasa semejantes a las enzimas del sistema fibrinolítico y de coagulación. (Mc Lean, y otros, 2010) (Imagen No. 2.4).

Actualmente se conoce que la Lp(a) es altamente polimórfica, ya que existen alrededor de seis isoformas de apo (a) llamadas S1-S4 (slower) y F5-F6 (faster), que dependen del número de dominios kringle T10 que contengan y del grado de glicosilación de la proteína (Brandan, Llanos, Barrios, Escalante Marassi, & Ruiz Diaz, 2006). Los estudios realizados por Uterman indican que un individuo posee uno o dos tipos de isoformas de Lp(a) circulantes y que estas son heredadas verticalmente de padres a hijos por varias generaciones. (Gevara, Knapp, Honda, Northup, & Morrisset, 1992)

Imagen No 2.4 Estructura de los genes de la Lp(a) y el plasminógeno



Tomado de: Sorell Gomez, L., Bermudez 2007

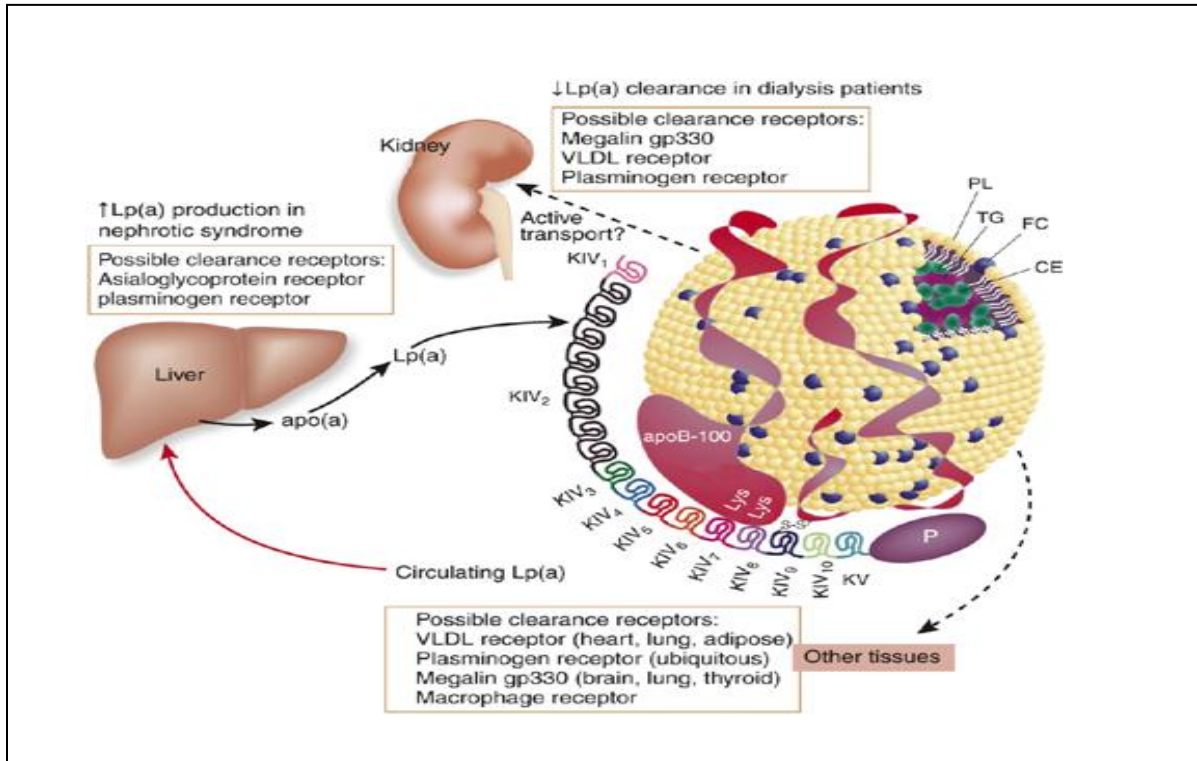
#### 2.2.3.4 Síntesis y metabolismo de la Lp(a)

Varias son las evidencias que indican que el principal órgano de síntesis de Lp(a) es el hígado puesto que se ha encontrado que el ARNm de la Lp(a) se encuentra en grandes cantidades dentro del hepatocito, lugar donde también se sintetiza la apoB<sub>100</sub>. (Francisco & Chacon, 2002). El estudio de Krempler demuestra que los dominios de lisina presentes en la apoB<sub>100</sub> son capaces de unirse covalentemente mediante puentes de disulfuro con las regiones kringle de la apo a. (Pereira, 2010). Se ha establecido que la proteína formada por la unión entre apo a y apoB<sub>100</sub> es la precursora de la Lp(a), que al salir del retículo endoplasmático y posteriormente del aparato de Golgi va a transformarse en una Lp(a) madura; el tiempo de permanencia en el retículo y el aparato de Golgi depende del tamaño de esta partícula, por lo que las más largas serán retenidas por más tiempo y secretadas en menor cantidad. (Prudente & Gentilli, 2007)

En cuanto al ensamblaje de la Lp(a) ocurre en dos etapas: en la primera etapa se produce una interacción inicial entre la apo(a) y la apoB<sub>100</sub> de tipo no covalente donde participan los kringles T 10 de la apo(a) y los residuos de aminoácidos del extremo amino terminal de la apoB<sub>100</sub> especialmente el residuo lisina, al igual que los aminoácidos del extremo carboxilo terminal especialmente los aminoácidos de la región 4372 a la 4392. (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007). En la segunda etapa la unión entre apo a y apoB<sub>100</sub> es de tipo covalente, luego de la unión, la Lp(a) termina de ensamblarse fuera del hepatocito o en su superficie. (Lazaro, Zayas, Pereira Roca, & Aguilar Betancurt, 2003) (Imagen No 2. 5)

Por otro lado se conoce que fragmentos de apo(a) puede estar libres en el plasma en muy bajas concentraciones y estos también son responsables de la aterogenicidad de la Lp(a). El catabolismo y eliminación de la Lp(a) sérica del organismo se realiza en el hígado y riñón respectivamente (Enriquez & Matas, 2008)

Imagen No 2.5 Representación esquemática de la vías propuestas para la síntesis y metabolismo de Lp(a)



Tomado de: Albers y Koschinsky, 2007

### 2.2.3.5 Regulación de la concentración de la Lp(a) sérica

La concentración sérica de la Lp (a) varía desde 0,1 mg/dL hasta 2,5 mg/dL tanto en la población en general, como en aquella con diagnóstico de diabetes mellitus tipo - 2. (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007)

La mayoría de los autores coinciden en que la variabilidad en la concentración de la Lp (a) sérica se debe a la influencia genética que esta presenta. (Carmena, 2008). El 90% de esta variabilidad lo aportan la presencia de varias isoformas de apo(a), debido al polimorfismo del gen que codifica a la apo(a), la sustitución de una base de adenina por guanina en la posición 1230 aumenta en un 70% la concentración de Lp(a); el cambio de una base de guanina por

termina en la posición 1712 del gen que codifica a la apo(a) ocasiona la disminución de un 40% en la concentración sérica de Lp(a) (Santica, Marcovina, Marlys, Koschinsky, Albers, & Skarlatos, 2003). El 10% restante de la variabilidad se distribuye por el tamaño de la partícula de apo (a), que se determina por el número de copias del kringle T 10 (sin embargo el tamaño tiene una relación inversa con la concentración de Lp (a) sérica). (Rosby & Berg, 2000)

## **2.3 DIABETES MELLITUS TIPO 2**

La Diabetes Mellitus corresponde a un grupo de desordenes metabólicos, caracterizada por hiperglucemia crónica con modificación del metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas causando alteraciones en la sensibilidad y en la secreción de insulina. A lo largo de su evolución como enfermedad crónica, la diabetes mellitus afecta a la totalidad de órganos y tejidos provocando complicaciones microvasculares. (Tóme, 2008)

La DM- 2 va de la mano con perfiles lipídicos alterados, obesidad central y presión arterial elevada; más frecuente en mujeres que en hombres que han sido diagnosticados en edades tempranas y más aún en los individuos cuyas edades oscilan entre 40 y 70 años. (Tóme, 2008)

Se detecta por lo general en una etapa avanzada a partir de los 40 años, sin embargo la enfermedad es cada vez más prevalente en la etapa infanto-juvenil y no es excepcional el diagnóstico a partir de las complicaciones crónicas asociadas, de hecho más del 50% de individuos presentan complicaciones en el momento del diagnóstico. (Castelo & Licea, 2008)

A menudo está asociada con la obesidad, que en sí misma puede causar resistencia a la insulina y generar hiperglucemia. No obstante, también se encuentra un componente hereditario, aunque los principales genes de susceptibilidad aún no han sido identificados. Entre los factores relacionados con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 cabe destacar:

- Obesidad, sedentarismo.
- Malos hábitos alimenticios.
- Resistencia a la insulina.
- Antecedentes familiares de diabetes.
- Origen étnico.

### **2.3.1 Etiología**

La etiología de la DM 2 es desconocida. Los genes candidatos propuestos son el de la insulina, el receptor de insulina, receptor de la glucocinasa y del genoma mitocondrial. Los factores reconocidos como determinantes son el sobrepeso y la obesidad relacionados con el sedentarismo, el estrés emocional, la alimentación rica en fructosa y ácidos grasos saturados, el tabaquismo, el alcoholismo y la falta de control de los trastornos del metabolismo del colesterol y triglicéridos. (Alejando, 2009)

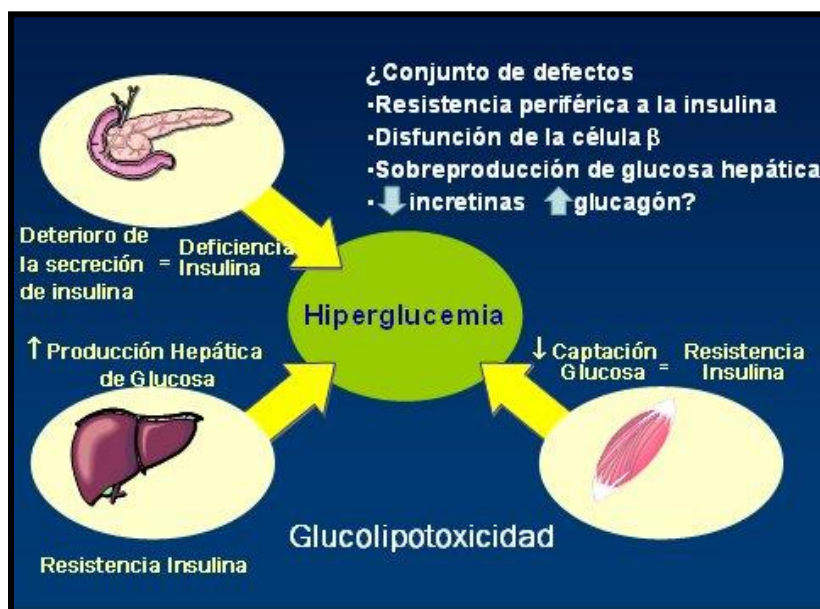
### **2.3.2 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 se produce fundamentalmente por una falla en la secreción de insulina y se caracteriza por las siguientes alteraciones fisiopatológicas:

- La insulinoresistencia periférica que se produce a nivel de musculo estriado donde disminuye la captación y metabolismo de la glucosa y la insulino-resistencia central que se desarrolla en el hígado, donde aumenta la producción de glucosa dando como resultado la hiperglicemia en ayunas.(Durand Rivera, 2005) (Imagen 2.6)
- Falla de las células  $\beta$  para adaptarse a las necesidades sistémicas de insulina, que se incrementa por la resistencia periférica tanto del músculo como del tejido adiposo y en menor parte del hígado, lleva a una disminución en el metabolismo de la glucosa mediado por esta hormona, lo que genera hiperglucemia (Arosón & Rayfield, 2008)

- Aumento de la producción hepática de la glucosa: en la DM tipo 2 la resistencia hepática a la insulina refleja la incapacidad de la hiperinsulinemia de suprimir la gluconeogénesis, lo que produce hiperglucemia en ayunas y disminución del almacenamiento de glucosa en el hígado en el periodo postprandial.(Durand Rivera, 2005)

Imagen No 2.6 Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2



Tomado de: Durand y Rivera 2005

### 2.3.3 Obesidad como factor fisiopatológicos para desarrollar DM-2

La obesidad aún siendo moderada y especialmente la obesidad abdominal, puede elevar diez veces el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2. (Castelo & Licea, 2008). En individuos obesos, la acumulación de grasa abdominal produce liberación de ácidos grasos a través de la vena porta ocasionando un exceso de síntesis hepática de triglicéridos, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. (Carmena, 2008)

La grasa tisular tiene aparentemente dos mecanismos de acción en la fisiopatología de la diabetes: por un lado aumenta la demanda de insulina y por otro aumenta la resistencia a la insulina y por consiguiente la hiperinsulinemia. La sensibilidad de la grasa tisular a la insulina se mantiene alta y por tanto, es probable que los nutrientes se incorporen a la grasa para su almacenamiento (Pérez B, 2009). La resistencia a la insulina en la obesidad se debe en gran parte a la disminución de los receptores de insulina y también a defectos post- receptores intracelulares. (García Quintanilla & Zuñiga Guajaro, 2010)

## **2.4 DESORDEN DE LA CONCENTRACIÓN DE Lp(a) EN EL PACIENTE DIABÉTICO**

Muy pocos son los estudios realizados en población diabética, sin embargo hasta la actualidad se conoce que en la diabetes mellitus tipo 2 la variabilidad de la concentración sérica de la Lp(a), también se le atribuya a las variaciones genéticas que presenta la apo(a), igual que en la población que no es diabética. La diferencia que se presenta en la población diabética es la presencia de isoformas B, S<sub>1</sub> y S<sub>2</sub> de apo(a), principalmente en circulación se asocian al aumento de los niveles séricos de Lp(a). (Arosón & Rayfield, 2008)

Otro factor genético que cambia en la diabetes es que este tipo de pacientes tiene el polimorfismo en la posición 1230 del gen que codifica a la apo(a); la sustitución de una base de adenina por guanina aumenta el 85% de los niveles séricos de Lp(a), lo que no ocurre en la población que no es diabética. (Francisco & Chacon, 2002) .Además según estudios realizados por Utermann los pacientes diabéticos no presentan el polimorfismo en la posición 1712 del gen de apo(a) ya que una sustitución de base hace que fenotípicamente a nivel sérico los niveles de Lp(a) sean bajos. (Prudente & Gentilli, 2007)

Otros factor importante en la población diabética es que el kringle T<sub>10</sub> de la apo(a) que se asemejan al kringle IV del plasminógeno se repite consecutivamente permitiendo que la lipoproteína (a) formada sea de menor tamaño y por lo tanto la concentración sérica aumente. (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007)

Se sabe que en la población no diabética los factores ambientales, cambios en la condición de vida, el sedentarismo y la obesidad tienen muy poca influencia sobre los niveles séricos de esta lipoproteína, sin embargo esta condición cambia en la población diabética ya que el sedentarismo, la obesidad principalmente abdominal, la resistencia a la insulina, cambian el metabolismo lipídico, provocando principalmente un aumento de la cantidad de colesterol contenido en la LDL, los triglicéridos permiten que la apo (a) ligue más cantidad de lípidos lo que da como consecuencia que los niveles de Lp(a) aumente significativamente. (Santica, Marcovina, Marlys, Koschinsky, Albers, & Skarlatos, 2003).

#### **2.4.1 Lp(a) y obesidad relacionada con IMC y CC**

La obesidad está estrechamente relacionada con un IMC mayor a  $25 \text{ kg/m}^2$  y con el porcentaje de grasa abdominal medido con el diámetro de cintura (CC >102 cm en hombres y > 88 cm en mujeres), se sabe que el aumento de la prevalencia de obesidad incrementa el desarrollo de los procesos crónicos y la disminución de una buena calidad de vida del paciente. (Fernandez Luengo, Rubio Ordoñez, Matinez Begua, & Laclaustra Gimeno, 2005)

En el caso de los pacientes con DM-2, el tejido adiposo al ser muy activo produce distintos tipos de citocinas como: la leptina, adiponectina, resistina interleucina 6 y 8, siendo la adiponectina y la resistina las más importantes, puesto que son las responsables de aumentar la resistencia a la insulina en estos pacientes. La distribución del tejido grasa especialmente a nivel visceral se asocia con alteraciones importantes en el metabolismo de la glucosa e insulina provocando el aumento de la prevalencia de sufrir una cardiopatía isquémica. (Fernandez Luengo, Rubio Ordoñez, Matinez Begua, & Laclaustra Gimeno, 2005). A causa de las alteraciones que se producen en el metabolismo del tejido adiposo y la sobreproducción de citocinas de tipo inflamatorio, la Lp(a) juega un rol importante debido a su similitud con el plasminógeno y las LDL, puesto que esta lipoproteína va a penetrar en la pared de los vasos sanguíneos, alojándose en el interior de los macrófagos y sobrecargándose de una cantidad excesiva de grasa; promoviendo la multiplicación celular con el consiguiente espesamiento de la pared arterial y formación de la placa ateromatosa favoreciendo su aterogenicidad. (Luganes Botell & Navarro, 2005)

### **2.4.2 Lp(a) y presión arterial**

La homología estructural que existe entre la apo(a) y el plasminógeno condiciona un efecto competitivo que conduce, por una parte, a la unión preferencial de la Lp(a) con los residuos lisina de la fibrina y por la otra a la inhibición de la unión del plasminógeno y de la cantidad de plasmina generada en la superficie de la fibrina de las células endoteliales, de los monocitos y de las plaquetas causando la acumulación de colesterol y estimulación de la proliferación de las células musculares lisas dentro de la íntima, aumentando el volumen vascular y estructura de la pared arterial de los vasos sanguíneos, que hace que el flujo sanguíneo cambie por la disfunción de la capa interna y la resistencia arteriolar que se genera dando como resultado la elevación de la presión arterial (Kostener & Kostener, 2002)

### **2.4.3 Lp(a) edad y género**

Las concentraciones plasmáticas de Lp(a) presentan un espectro muy amplio, tanto en varones como en mujeres, y pueden oscilar desde cantidades mínimas de difícil detección, inferiores a 1 mg/dl, hasta valores de 200 mg/dl. (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007)

La concentración plasmática de Lp(a) en cada individuo está determinada en un 90% por factores genéticos y permanece bastante estable y con un valor característico a lo largo de la vida, aunque diversas situaciones fisiológicas pueden modificarla. La concentración de Lp(a) es baja en el momento del nacimiento y aumenta a los pocos días para permanecer prácticamente sin cambios, tanto en varones como en mujeres, aunque en éstas hay aumentos durante la gestación y tras la menopausia. (Enriquez & Matas, 2008)

Existen diversas sustancias hormonales como los esteroides anabolizantes utilizados en mujeres en el climaterio para el tratamiento de la osteoporosis que parecen reducir la Lp(a). Circunstancialmente, se ha comprobado la acción reductora de los estrógenos en un paciente varón hipercolesterolémico sometido a estrogenoterapia por cáncer de próstata; este hecho, junto con la elevación de Lp(a) que aparece en mujeres tras la menopausia,

permite especular acerca de un posible beneficio de la terapia hormonal sustitutiva. (Gorban de Lapertosa, Ovando, & Aguirre, 2010).

#### **2.4.4 Otros mecanismos de acción de la lipoproteína(a)**

- La unión de la Lp(a) a los componentes de la matriz extracelular: estudios recientes indican que la Lp(a) y la apo(a) recombinante poseen una afinidad elevada para la fibronectina y que la Lp(a) podría formar complejos con ciertos poliglicanos o glicosaminoglicanos de la matriz extracelular lo que favorecería la modificación de la Lp(a) y su consecuente captación por los monocitos. (Jane, Schultz, & Shreffler, 2002)
- Oxidación de la lipoproteína(a): los fosfolípidos del núcleo lipídico de la Lp(a) son, como aquellos de las LDL, sensibles a las reacciones de oxidación. La Lp(a) modificada será captada por el receptor scavenger de los macrófagos y contribuirá así a la formación de las células espumosas. (Kang, Dominguez, Loyau, Miyata, & Duralach, 2007)

## **CAPITULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1 TIPO DE ESTUDIO**

El estudio es de tipo analítico, observacional transversal, el que se basó en la información obtenida en el proyecto “Fraccionamiento de lipoproteínas por electroforesis en gel en pacientes Diabéticos tipo 2 para la prevención y mejora en el tratamiento de enfermedad cardiovascular”, llevado a cabo en el 2011 en la PUCE-Quito, Escuela de Bioanálisis, gracias al apoyo de las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabéticos en Quito.

#### **3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población está conformada por hombres y mujeres entre 40 a 70 años diagnosticados previamente con DM- 2 que forman parte de las Asociaciones de Diabéticos de la ciudad de Quito.

Se trabajó con una muestra de tamaño  $n = 195$  pacientes, hombres y mujeres adultos, obtenida mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha}^2 * p * q}{d^2}$$

Donde:

$n$  = pacientes necesarios para la investigación (tamaño de muestra)

$\alpha$  = error tipo I, 0,05%

$Z_{(1-\alpha)}$  = 1,96 para un nivel de confianza de (1- $\alpha$ ) 95%

$p$  = prevalencia de la enfermedad= 4,8%= 0,048

$q$  = (1- $p$ ) = 0.95 (nivel de confianza)

$d$  = margen de error 0.03

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,048 \times 0,952}{(0,03)^2} = 195,05$$

El muestreo fue probabilístico al azar entre el grupo de diabéticos que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos para el estudio:

Pacientes:

- Diagnosticados con Diabetes Mellitus Tipo 2.
- Que forman parte de las Asociaciones de Diabéticos (pertenecientes a la Federación Ecuatoriana de Diabéticos)
- Que consientan la realización del estudio previa aceptación del consentimiento informado. (Anexo No.1)
- Hombres y mujeres entre 40 a 70 años.

### 3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO

VARIABLES	ESCALAS/CATEGORÍAS	INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDIDA	DEFINICIÓN
GÉNERO	MASCULINO FEMENINO	%	Encuesta	Fenotipo de los individuos dentro de la investigación
EDAD (años)	40-49 50-59 60-70	% $\bar{x}$ IC 95%	Encuesta	Periodo de tiempo transcurrido de los individuos incluidos en el estudio desde el nacimiento hasta el momento de la toma de muestra
PRESION ARTERIAL SISTÓLICA (mmHg)*	< 140 mmHg = Normotensos ≥ 140 mmHg = Hipertensos	%	Tensiómetro de mercurio	Presión sistólica que registra el tensiómetro al momento de la toma de información.
INDICE DE MASA CORPORAL* (kg/m <sup>2</sup> )	< 25 kg/m <sup>2</sup> = Normopeso ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> = Obeso	%, $\bar{x}$ IC 95%	Fórmula	Relación entre el peso y la talla de un individuo
CIRCUNFERENCIA DE LA CINTURA (cm)*	Mujeres < 88 cm no riesgo ≥ 88 cm riesgo Hombres < 94 cm no riesgo ≥ 94 cm riesgo	% $\bar{x}$ IC 95%	Cintamétrica	Medida de la circunferencia de la cintura tomada a la altura en un plano horizontal alrededor del abdomen justo por encima del nivel de la cresta ilíaca.
GLUCOSA AYUNAS (mg/dl)*	< 110 mg/dl normal 110 – 126 mg/dl límite riesgo ≥ 126 mg/dl riesgo	% $\bar{x}$ IC 95%	Métodoenzimático colorimétrico	Concentración de glucosa que se encuentra en sangre periférica (suero)
COLESTEROL- Lp(a) (mg/dl)**	< 2,5 mg/dl no riesgo 2,5 – 30 mg/dl riesgo ≥ 30 mg/dl alto riesgo	% $\bar{x}$ IC 95%	Electroforesis en gel	Concentración de colesterol contenido en Lp(a) en sangre periférica (suero) separado por electroforesis en gel y cuantificada por densitometría con filtro de 570nm.

\* Categorías de acuerdo a las recomendaciones del National Cholesterol Education Program's. Adult Treatment Panel III/NCEP-ATPIII.

\*\* Categorías para Lp(a) de acuerdo a las encontradas en el estudio: The Prospective study of lipoprotein(a) as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease in patients with diabetes.

\*\*\* Categorías para glucosa sérica en ayuna de acuerdo a la OMS:

### **3.4 OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN Y TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA**

Previo a la obtención de la información y de las muestras sanguíneas se realizó un acercamiento a los médicos y a los pacientes que pertenecen a las Asociaciones de la Federación Ecuatoriana de Diabéticos a los que se les dio una charla informativa, para darles a conocer el por qué se va a realizar el estudio, así como la importancia de la investigación y del apoyo por parte de los pacientes para llevar a cabo la misma. Los pacientes que estuvieron de acuerdo firmaron el consentimiento informado. (Anexo No. 1).

#### **3.4.1 Obtención de la información socio demográfica**

La información socio demográfico y clínica de los pacientes que aceptaron formar parte del estudio se obtuvieron mediante una ficha de recolección de datos (encuesta) previamente diseñada. (Anexo No 2 y No .3).

#### **3.4.2 Obtención de la información de las medidas antropométricas y otros**

Para la obtención de datos tales como: presión arterial sistólica, peso y talla de los pacientes que formaron parte del estudio se utilizo técnicas estandarizadas que se describen en el anexo No. 4. En cuanto a la medición de circunferencia de cintura (Imagen 3.1) se utilizó la técnica descrita en el anexo No.5, mientras que para la obtención de datos de Índice de Masa Corporal se aplicó la formula de Quetelet descrita en el anexo No.5

Imagen No 3.1 Medición de la CC



### 3.4.3 Obtención de la muestra sanguínea

Previo a la obtención de la muestra sanguínea los pacientes debieron cumplir con ciertos criterios preanalíticos, los m Fuente: disertantes 2011 a cada paciente en forma oral y escrita:

- Evitar el estrés antes y durante la toma de la muestra.
- No hacer ejercicios vigorosos durante 3 días antes de tomar la muestra.
- No ingerir bebidas alcohólicas antes ni durante la toma de la muestra.
- No administrarse ninguna medicación especialmente hipoglucemiantes, insulina antes de la toma de muerte sanguínea.
- Permanecer en ayunas durante 12 horas antes de la toma de muestra
- No fumar antes ni durante la toma de la muestra.
- Acudir en horario matutino.

A cada uno de los pacientes seleccionados para el estudio se le extrajeron 5 mL de sangre sin anticoagulante (Imagen No 3.2) por venopunción y con sistema de extracción al vacío de acuerdo a procedimientos estandarizados (Anexo No.6). La identificación de cada muestra se realizo por códigos para proteger la identidad de los participantes.

Imagen No 3.2 Extracción de muestra



Fuente: disertantes 2011

Después de la obtención de la muestra sanguínea se transportó la misma en cadena de frío (2-8°C) al laboratorio de química clínica de la Escuela de Bioanálisis donde se procedió a la separación del suero de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Coagulación completa de las muestra, reposo de 1 hora.
- Centrifugación a 3200 rpm por 12 minutos.
- Separación del suero de cada paciente en dos alícuotas, de 1 mL. La primera se utilizó para la cuantificación de glucosa, colesterol total y triglicéridos y la segunda para la electroforesis de lipoproteínas, las alícuotas separadas en tubos eppendorf y tapadas fueron almacenadas en refrigeración (2-8°C) hasta su análisis. ( Imagen No 3.3 )

Imagen N. 3.3 Separación del suero obtenido



### 3.5 ANÁLISIS EN EL LABORATORIO

Las muestras séricas fueron sometidas a análisis para la cuantificación de los diferentes analitos por los métodos descritos en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Analitos determinados en las muestras sanguíneas

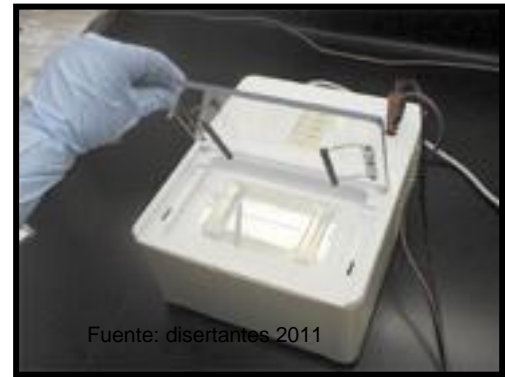
Determinación	Unidades	Método	Casa comercial	Equipo	Laboratorio
Glucosa sérica	mg/dl	enzimáticocolorimétrico GOD-PAD	DadeBerinHg	Dimension AR	DiSerLaB- PUCE
Colesterol sérico	mg/dl	enzimáticocolorimétrico CHOD-PAD	DadeBerinHg	Dimension AR	DiSerLaB- PUCE
Lipoproteínas colesterol- Lp(a)	mg/dl	electroforesis en gel de agarosa	Helena laboratorios	Quick Gel	Lab. QuímicaClínica (Esc.deBioanálisis)

### 3.5.1 Fraccionamiento de lipoproteínas [colesterol Lp(a)]

El fraccionamiento de lipoproteínas: c- Lp(a), c-HDL, c-LDL y c-VLD se basa en la separación de estas partículas según su tamaño y carga eléctrica a través de una matriz gelatinosa mediante la aplicación de una carga eléctrica. (Anexo 7)

Luego de la separación electroforética de las lipoproteínas se somete el gel a una tinción enzimática (tinción rojo grasa 7B) para posterior cuantificación de colesterol en la L(a). La coloración producida en cada banda es directamente proporcional a la cantidad de colesterol presente en cada lipoproteína. La cuantificación del colesterol de la fracción que corresponde a la Lp(a), así como de las otras lipoproteínas se obtiene mediante el escaneo del acetato en un densitómetro (Quick Scan 200) utilizando longitud de onda de 570nm (Imagen 3.4). Los resultados generados son reportados en mg/dL.

Imagen 3.4 Kit de reactivos y cámara electroforética



Fuente: disertantes 2011

### 3.5.1.1 Equipos y materiales para la electroforesis en gel.

Para la electroforesis en gel de agarosa de las distintas lipoproteínas se utilizaron los siguientes equipos y materiales (tabla 3.2)

Tabla 3.2. Reactivos y materiales usados para la electroforesis

REACTIVOS/MATERIALES	EQUIPOS
Kit para la determinación de colesterol contenido en las LP (marca Quick Gel, 10x 10 lote 3543T)	Cámara de electroforesis Quick Gel
Diluyente de colesterol SPIFE	Plato para la tinción
Acido cítrico	Cámara de incubación Quick Gel
Papel secante A y B Quick Gel	Escáner 2000 Quick Scan
Reactivo de colesterol SPIFE (colorante rojo grasa 7B)	Pipetas automáticas ( 1- 5 $\mu$ l , 5- 10 $\mu$ l y 20-200 $\mu$ l)

### 3.5.1.2 Reporte de resultados de la electroforesis.

Después del relevado electroforético, se detectó la Lp(a) en las muestras séricas como una banda entre la zona  $\alpha$  (correspondiente a c-HDL) y la zona pre- $\beta$  (correspondiente a c-VLDL) (Imagen No 3.5 y 3.6). En ausencia de Lp(a) no se visualiza ninguna banda entre las zonas mencionadas anteriormente como se puede observar en las Imágenes 3.7 y 3.8.

Imagen 3.5 Electroforesis de Lp(a) : Paciente con niveles elevados de Lp(a)

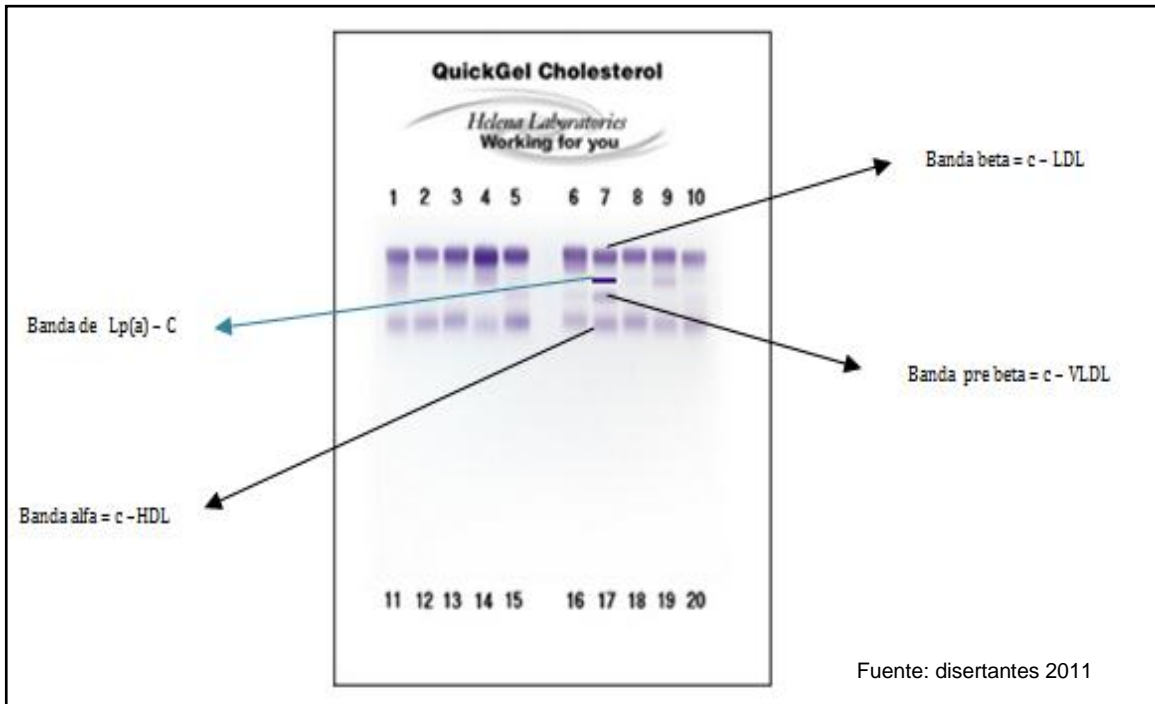


Imagen 3.6 Electroferograma de paciente con niveles elevados de Lp(a)

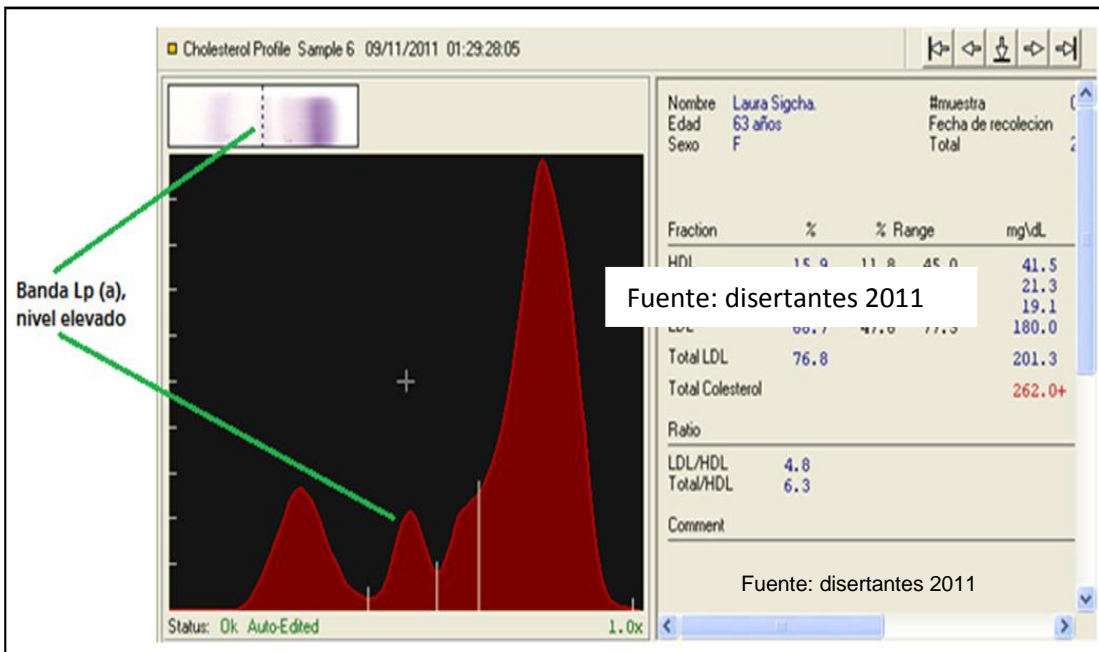


Imagen 3.7 Electroforesis de Lp(a): Paciente sin Lp(a) en suero

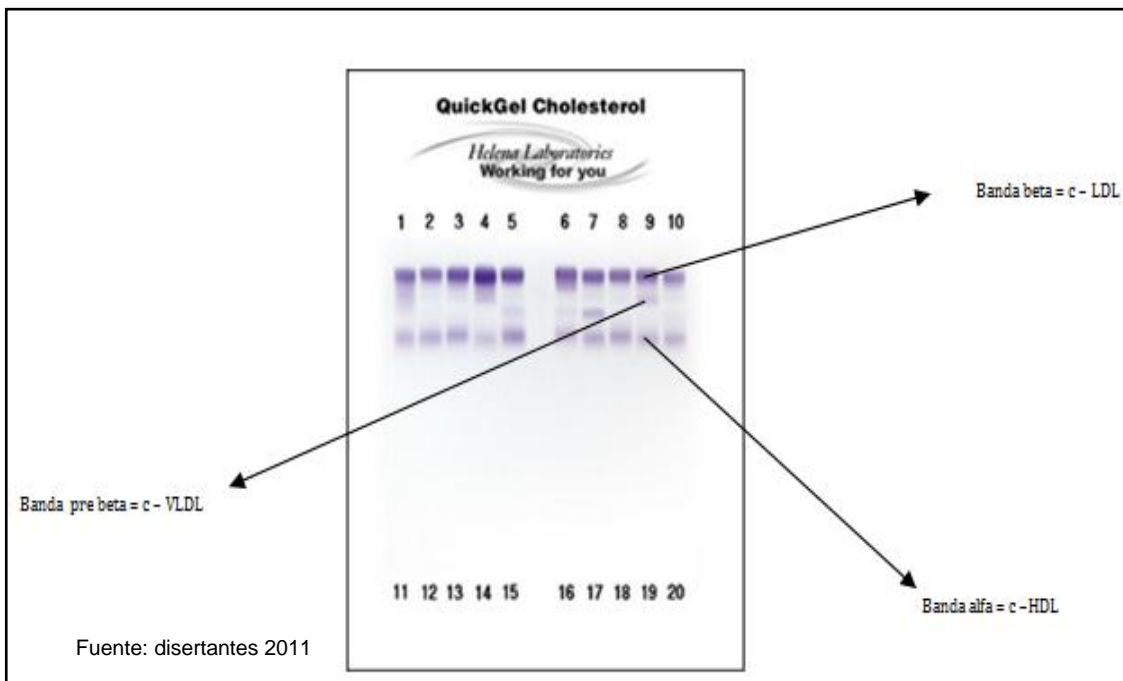
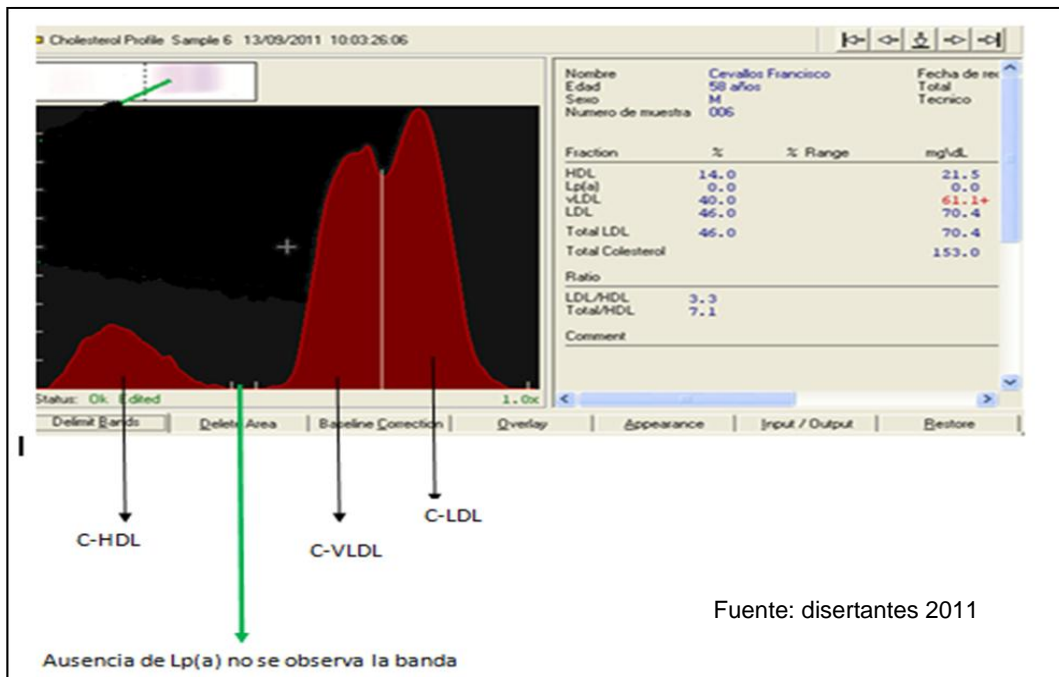
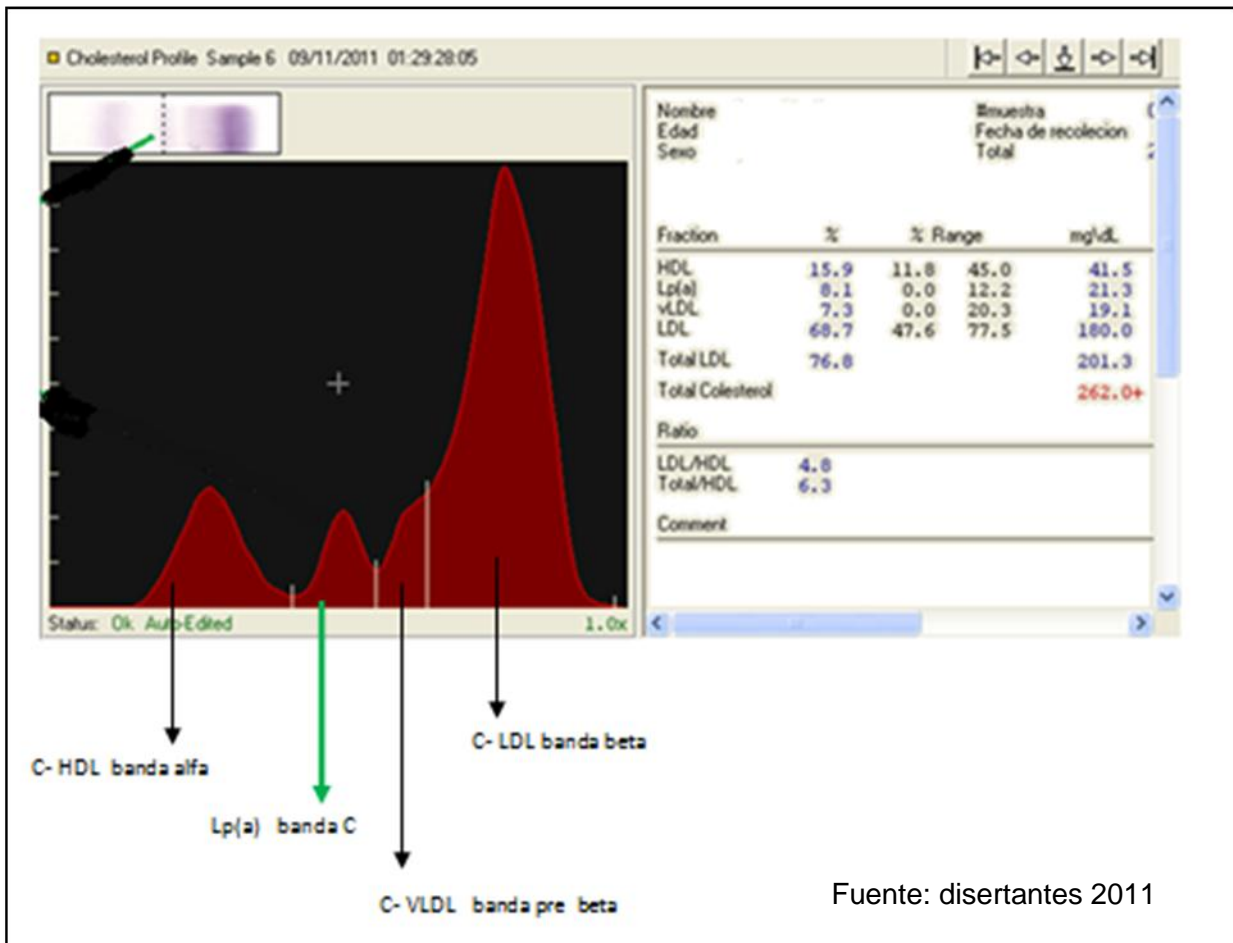


Imagen 3.8 Electroferograma de paciente sin Lp(a) sérica



Para la validación y aseguramiento de los resultados obtenidos se utilizaron controles de calidad (control Lipotrol 5 x 1.0 mL) proporcionados por la casa comercial Helena Laboratories (Ver Imagen No 3.9)

Imagen 3.9 Electroferograma del control de calidad usado



### 3.6 MANEJO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Para proteger la identidad y confidencialidad de los pacientes y sus resultados, se codificaron cada una de las muestras, estos códigos se utilizaron en los equipos automatizados para el procesamiento de las mismas y en las hojas de datos (M. Office- Excel) para el registro de datos socios demográficos, antropométricos y resultados del laboratorio. Los datos cuantitativos de los analitos séricos y otras variables fueron codificados de acuerdo a las categorías propuestas.

Se utilizaron los programas estadísticos StatGraphicStat SE 10.1 Y SPSS V16.0 en los que se realizaron las pruebas de normalidad de Kolmogorof-Smirnovy las de significancia para datos no paramétricos Mann – Whitney y Kruskal Wallis. Para las asociaciones de Lp(a) con los factores de riesgo no lipídicos se utilizó la regresión lineal logística multivariada con las siguientes hipótesis estadísticas que sirvieron para evaluar los resultados obtenidos:

- $H_0$  = El valor de p es menor o igual a 0.050 existe una asociación entre Lp(a) y los factores de riesgo cardiovascular no lipídicos.
- $H_1$  = El valor de p está es mayor a 0,050 no existe asociación entre Lp(a) y los factores de riesgo cardiovascular no lipídicos.

Se calcularon los estadísticos de tendencia central y dispersión que fueron representados en tablas y gráficos para su posterior análisis.

## CAPÍTULO IV

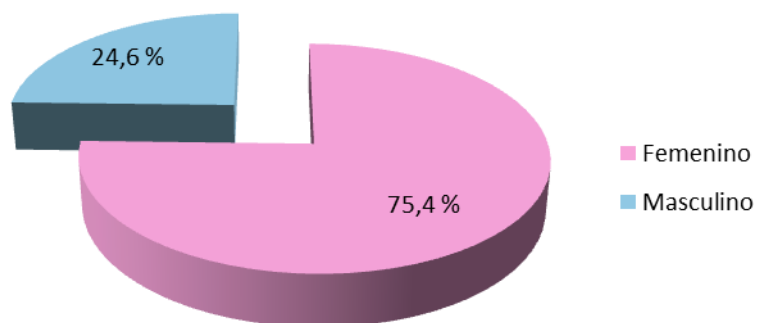
### RESULTADOS

#### 4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA

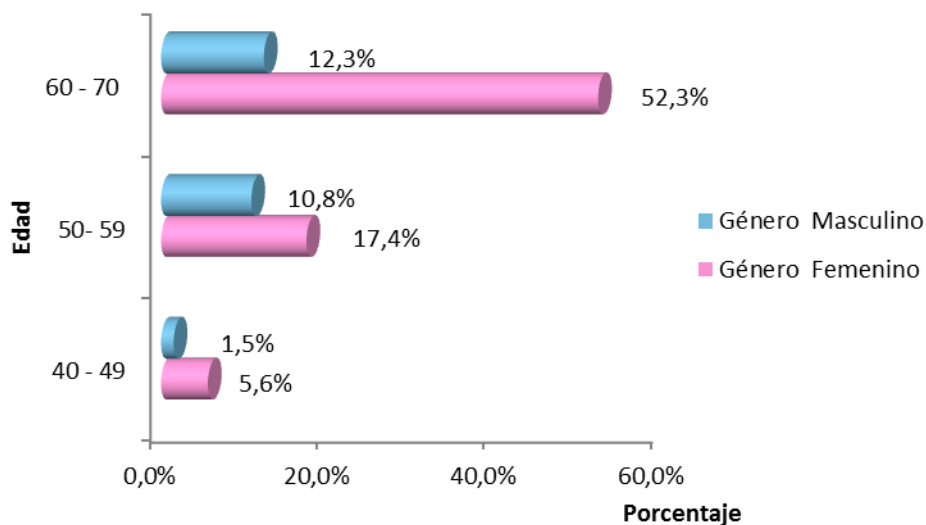
##### 4.1.1 Distribución de la muestra por género y edad

La muestra estudiada estuvo conformada por 195 pacientes adultos diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2, correspondiendo el 24,6% al género masculino y el 75,4 % al género femenino. De acuerdo al grupo etario el mayor porcentaje de la muestra se ubicó en edades entre 60 y 70 años para los dos grupos, siendo mayor en el grupo de mujeres el 52,3% frente al 12,3% para los hombres en el total de la muestra. (Gráfica 4.1 y 4.2)

Grafica 4.1 Distribución de la muestra por género



Gráfica No. 4.2 Distribución de la muestra por grupo etario



#### 4.1.2 Características de las variables no lipídicas en la muestra de diabéticos

De acuerdo a los datos obtenidos en la investigación, la presión arterial sistólica para la muestra estudiada en promedio fue de  $113,8 \pm 25,4$  mm Hg; la circunferencia de cintura en promedio para los hombres fue de  $99,8 \pm 11,2$  cm y para las mujeres de  $98,36 \pm 11,0$  cm. La media del IMC estuvo en  $28,0 \pm 4,6$  kg/m<sup>2</sup> para toda la muestra. (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Estadística descriptiva para variables no lipídicas

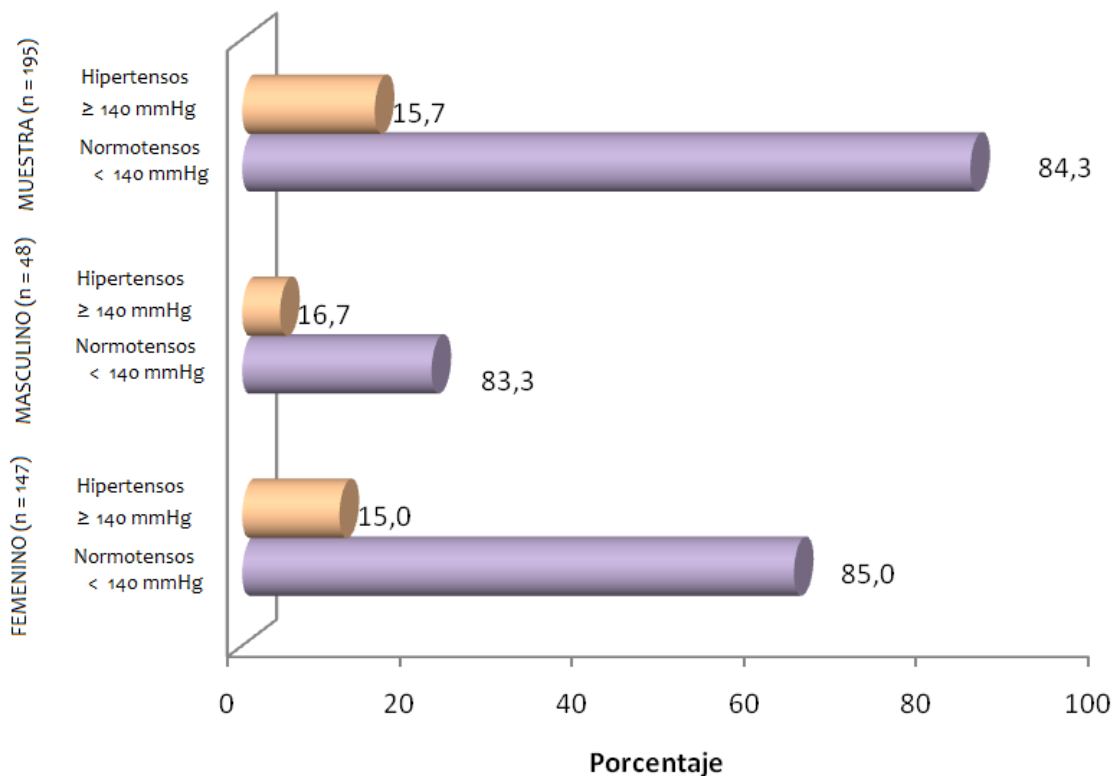
Variables no lipídicas (n = 195)					
Estadístico	Edad(años)	CC (cm)		IMC (kg/m <sup>2</sup> )	PAS (mmHg)
		Masculino	Femenino		
Media	62,5	99,8	98,3	28	113,8
Mediana	64	98	98	27,4	110
Moda	70	98	98	23,7	90
Des.Tip	7,4	11,2	11,0	4,6	25,4
Mínimo	42	82	61	18,6	80
Máximo	73	136	128	46,3	223

### 4.1.3 Factores de riesgo cardiovascular no lipídicos (IMC, CC, PAS) en la muestra de diabéticos tipo 2

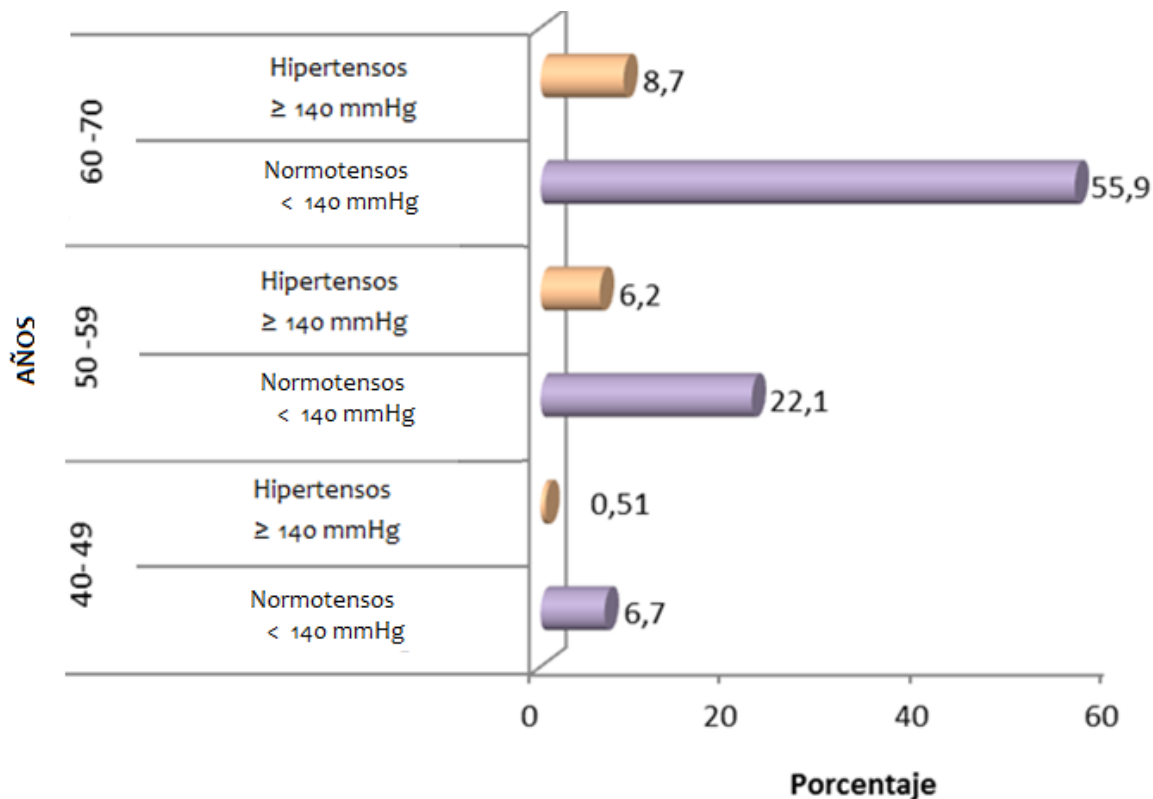
#### a) PAS

En cuanto a los factores de riesgo no lipídicos analizados en estos pacientes se observó que del total de la muestra, el 15.7 % (30 pacientes) son hipertensos; en el grupo de hombres el 16.7% (8 pacientes) presentaron presión arterial alta, mientras que en el grupo de mujeres la hipertensión se pudo observar en el 15.0% (22 pacientes), la mayoría de los cuales se encuentran en edades entre los 50 y 70. (Gráfica 4.3 y 4.4).

Gráfica 4.3 Distribución de normotensos e hipertensos en la muestra (n 195), y por género



Gráfica 4.4 Distribución de normotensos e hipertensos por grupos de edad (n= 195)



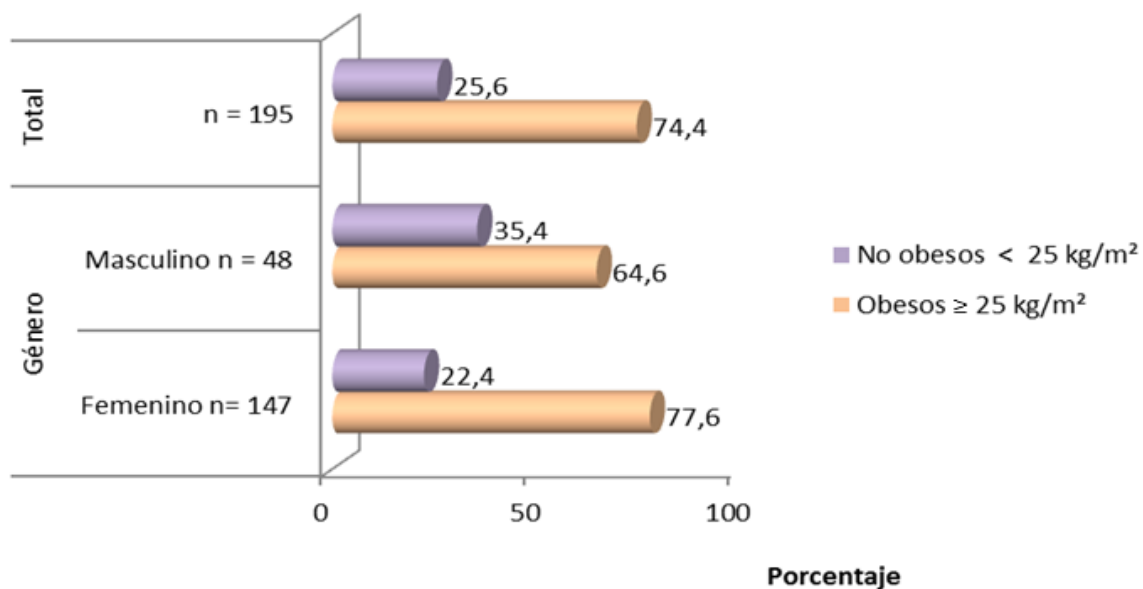
b) Obesidad – IMC

Uno de los factores de riesgo para ECV predominante en la muestra estudiada es la presencia de obesidad, especialmente la de tipo central (aumento de grasa abdominal), que complica el control de los niveles de glucosa sérica y de lípidos principalmente.

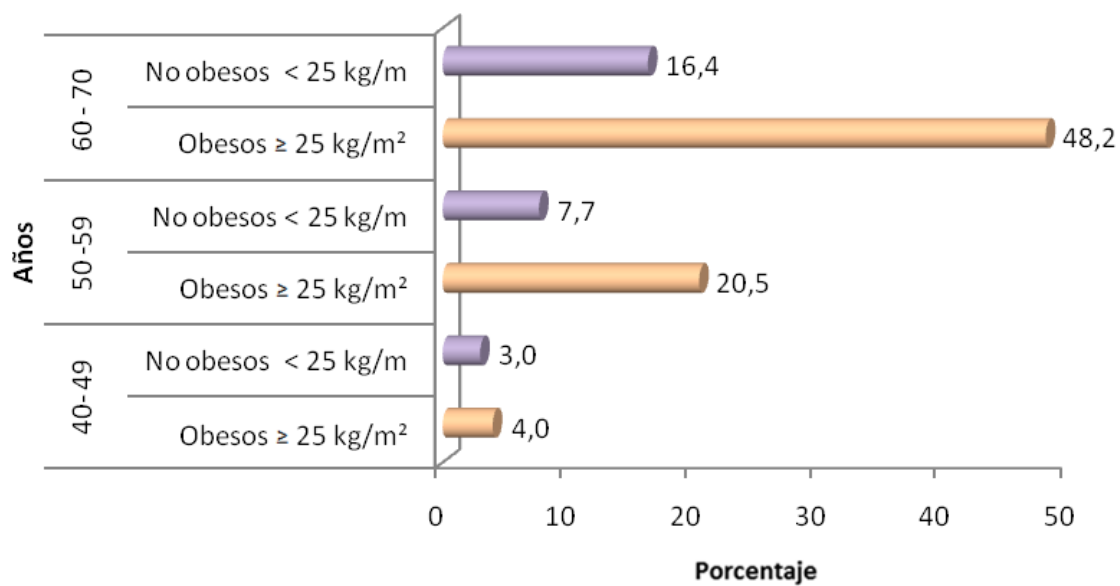
El IMC promedio fue de  $28,05 \pm 4,64$  kg/m<sup>2</sup>. El 76,6 % de las mujeres presentaron valores mayores o iguales a 25 kg/m<sup>2</sup> y un porcentaje menor para los varones, el 64,6% con valores mayores o iguales a 25 kg/m<sup>2</sup>. (Gráfica 4.5)

El 48,2% de pacientes obesos estuvieron entre los 60 y 70 años de edad seguido por un 20,5% entre lo 51 y 60 años de edad. (Gráfica 4.6)

Gráfica 4.5 Frecuencia de normopesos y obesos (IMC) en la muestra y por género (n= 195)



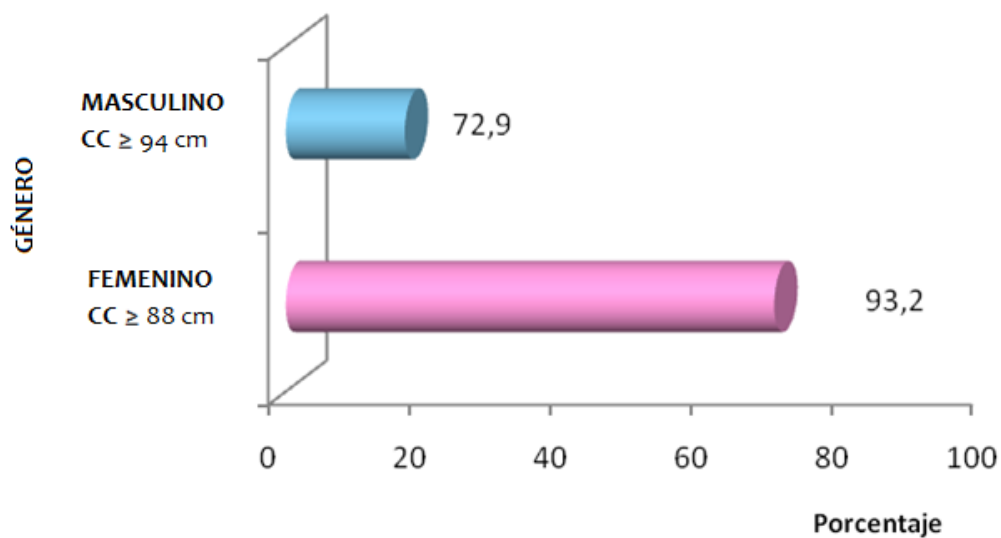
Gráfica 4.6 Frecuencia de FRCV no lipídico: normopesos y obesos (IMC) por grupo de edad



c) Circunferencia de cintura( CC)

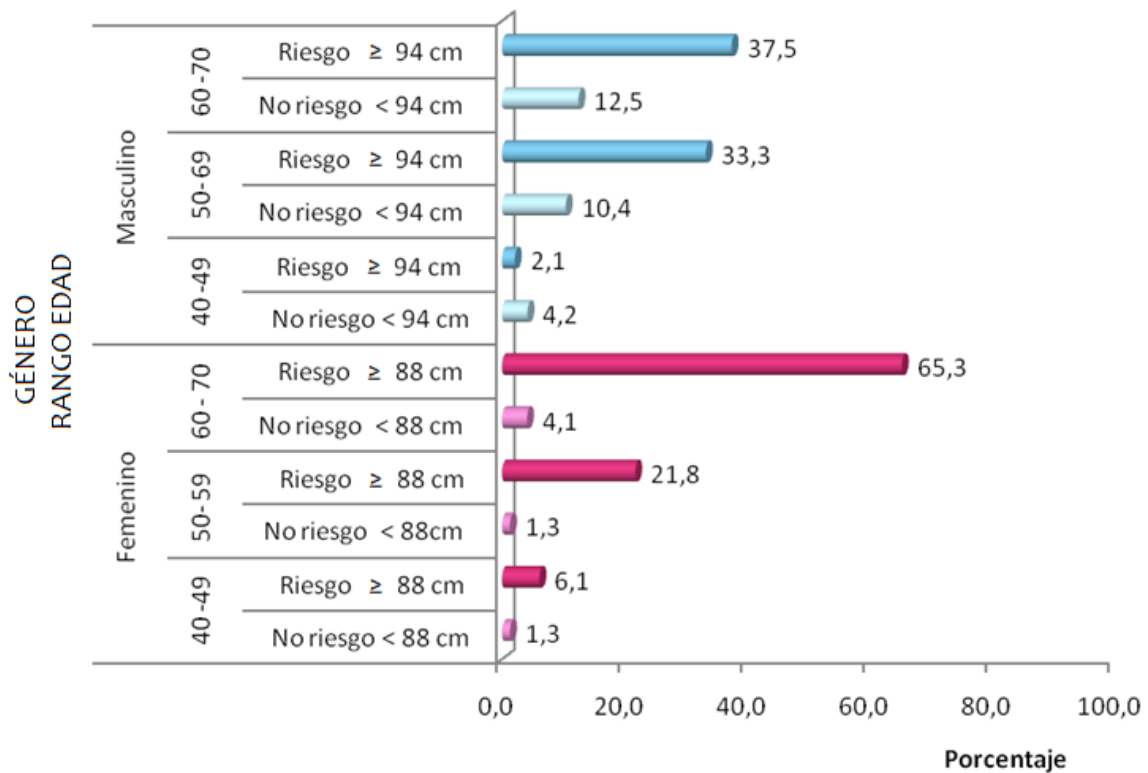
La circunferencia de cintura promedio para los varones fue de  $99,8 \pm 11,2$  cm y dentro del grupo el 72,9% presentó una CC mayor o igual a 94 cm, en comparación con las mujeres con un valor promedio  $98,3 \pm 11$  cm de CC, pero con un porcentaje mucho más alto de pacientes con una circunferencia en valores de riesgo cardiovascular, el 93,2% presentaron una CC mayor o igual a 88 cm. (Gráfica No 4.7)

Gráfica 4.7 Frecuencia de FRCV no lipídico: obesidad central (CC) por género



En la distribución por grupo etario y género, las mujeres presentan el porcentaje más alto en el grupo de los 51 a los 70 años, 87,1% (128) sobre o iguales a 88 cm, frente a un 70,8% (34) de los varones en el mismo rango de edad con una CC mayor o igual a 94 cm. (Gráfica No 4.8)

Gráfica 4.8 Frecuencia de FRCV no lipídico: obesidad central (CC) por grupo de edad/género



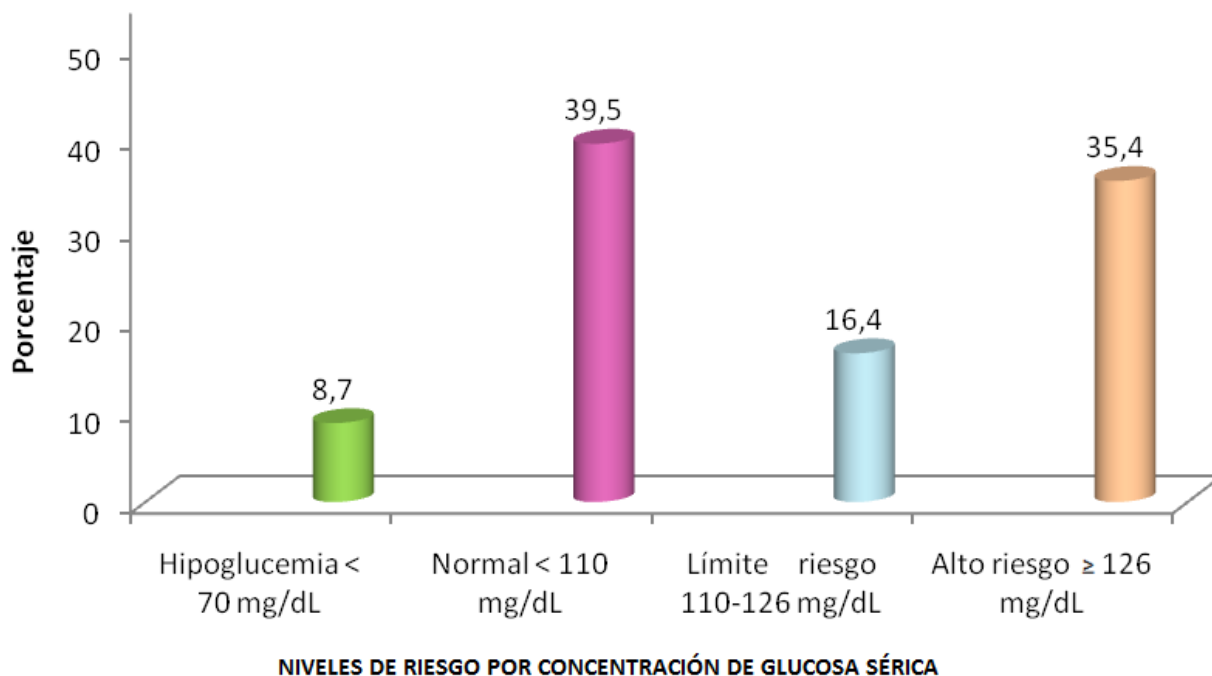
#### 4.1.4 Niveles de glucosa sérica

El 35.4% de los pacientes manejan niveles de glucosa sérica superiores a los 126 mg/dL, llegando en algunos casos a valores de 400 mg/dL o más. Llama la atención la presencia de valores muy bajos de glucosa sanguínea en el 8,7% de la muestra, posiblemente debido al uso de insulina o hipoglucemiantes. Los niveles de glucosa sérica por género son similares en el caso de la hipoglucemia; para los niveles de alto riesgo ( $> 126\text{mg/dL}$ ) el porcentaje de pacientes con glucosas séricas elevadas es algo mayor en el género masculino, 37.5% frente al 34.7% para el género femenino. (Ver tabla 4.2 y graficas 4.9 y 4.10).

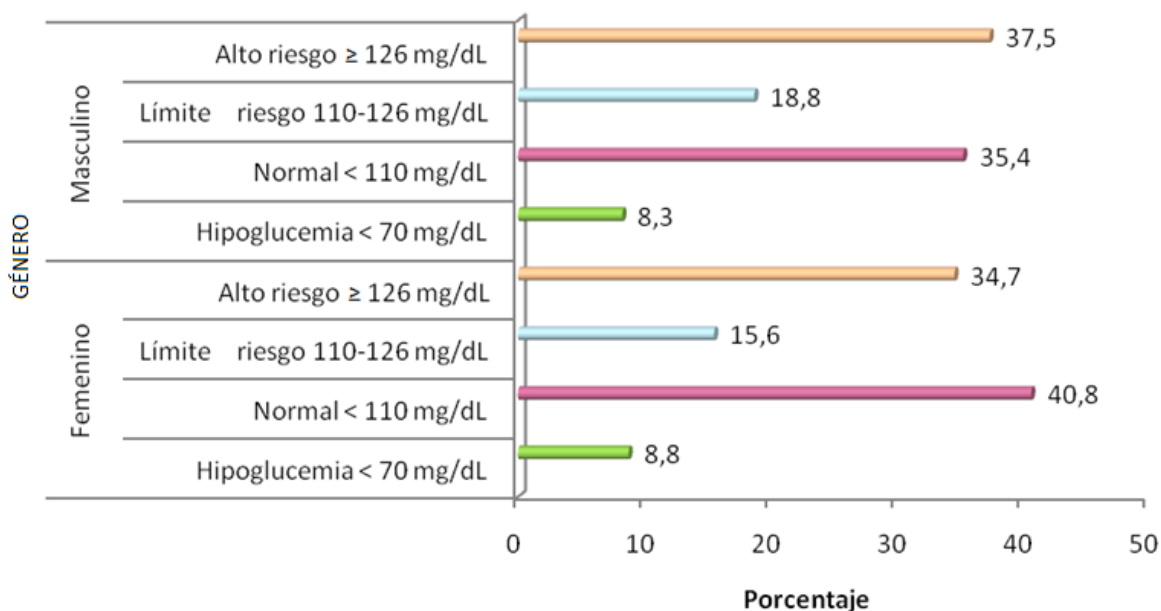
Tabla 4.2. Niveles de glucosa sérica por género y en toda la muestra

Estadístico (en mg/dL)	Femenino	Masculino	Total
<b>Media</b>	134,6	133,2	134,3
<b>Mediana</b>	110	110	110
<b>DS</b>	76	75,1	75,6
<b>Mínimo</b>	43	49	43
<b>Máximo</b>	373	426	426
<b>P25</b>	85,5	86,5	85,5
<b>P75</b>	149,5	139,0	146,5

Gráfica 4.9 Frecuencia de FRCV no lipídico: glucosa sérica de acuerdo a nivel de riesgo



Gráfica 4.10 Frecuencia de FRCV no lipídico: glucosa sérica de acuerdo a género



#### 4.1.5 Niveles de Lp (a) sérica

La distribución de los valores de colesterol en la Lp(a) fue asimétrica (prueba Kolmogorov-Smirnov,  $p = 0.00$ ) con alrededor de un 25% de pacientes en valores fuera de rango de referencia y la presencia de valores extremos como 21, 3 y 49,3 mg/dL.

Los datos que se presentan en la tabla 4.3 y la gráfica 4.11 revelan que un poco más del 75% de los pacientes tienen valores de Lp(a) entre 0 y 2,5 mg/dl (p75), con valores de corte similares hasta el percentil 65, un poco más bajos en los hombres con respecto a las mujeres. Aproximadamente desde el percentil 80 se observan valores elevados de Lp(a) en hombres y mujeres, siendo en este último grupo más altos.

Al distribuir por grupo etario, se observa que en las mujeres el aumento se encuentra desde el p80 desde los 50 años de edad, siendo mayores en el grupo de 60 a 70 años con respecto a

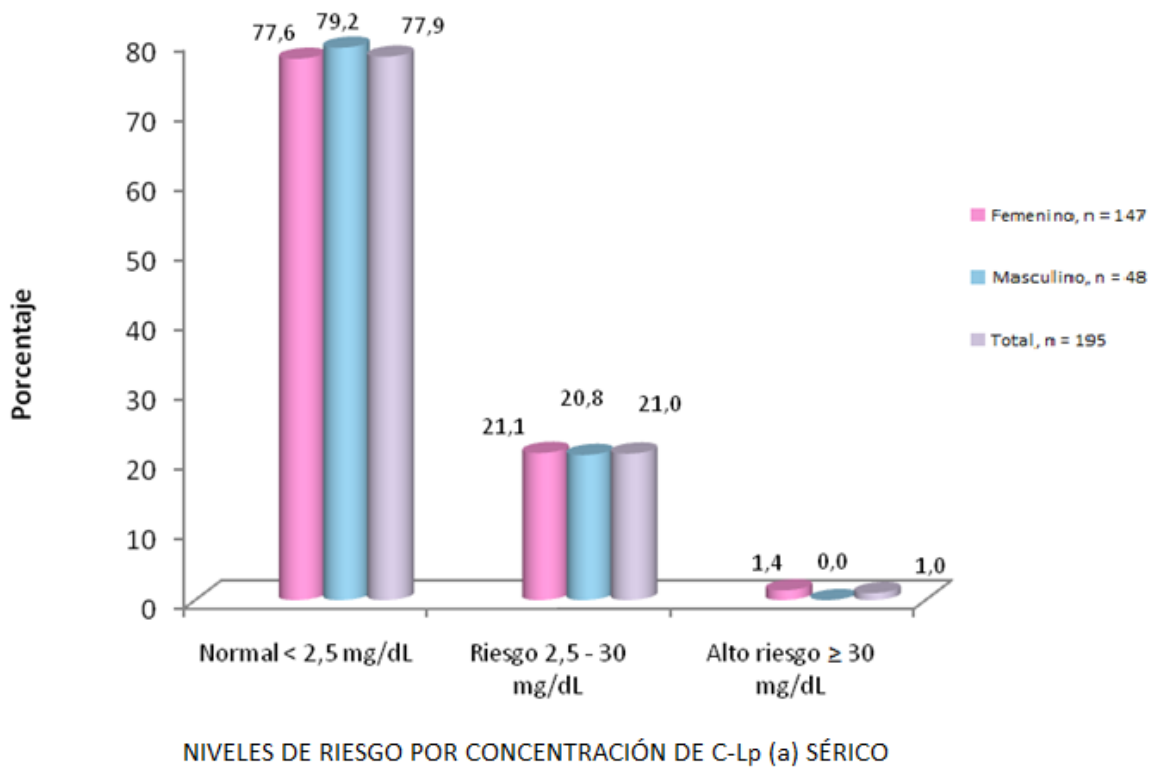
las mujeres de menor edad. En el grupo de los varones los pacientes con niveles altos se encuentran en edades comprendidas entre los 60 y 70 años, alrededor de 25% con niveles superiores al de las mujeres para la misma edad y de los 40 a los 59 años de edad en el caso de los varones se mantienen en niveles los niveles bajos y dentro del rango de referencia.

**Tabla 4.3.** Estadística descriptiva de la Lp(a) dividida por género y grupo etario

Estadístico (en mg/dL)	Femenino n=147				Masculino n=48				Total n = 195
	40 - 49	50 - 59	60- 70	Total mujeres	40 - 49	50 - 59	60- 70	Total hombres	
Media	0,92	2,4	2,9	2,6	0,7	1,3	2,8	2,1	2,5
Mediana	0,69	1,3	1,1	1,1	0,8	0,7	1,6	1,1	1,1
D <sub>S</sub>	0,83	4,2	6,5	5,8	0,4	2,3	3,4	3	5,3
Mínimo	0,2	0,2	0,0	0	0,3	0,1	0,2	0,1	0
Máximo	2,2	21,3	49,3	49,3	1,1	10,3	14,6	14,6	49,3
P25	0,2	0,6	0,4	0,5	0,6	0,3	0,8	0,6	0,5
P60	0,6	1,6	1,6	1,4	0,9	0,8	1,6	1,2	1,4
P65	0,9	1,8	1,5	1,5	0,9	0,9	2,0	1,5	1,5
P75	1,7	2,5	2,3	2,3	1,0	1,2	2,7	1,7	2,2
P80	2,1	2,6	3,0	2,7	1,0	1,3	3,9	2,5	2,6
P85	2,1	3,0	3,7	3,4	1,0	1,5	5,3	2,8	3,4
p90	2,1	3,3	4,9	4,3	1,0	1,9	7,2	5,3	4,5
Kolmogorof - Smirnov				p = 0.00					

El 1,4% de las mujeres presentaron niveles mayores a 30 mg/dl, por lo que deberían ser tomados en cuenta a la hora de evaluar a este tipo de pacientes, al ser un factor de riesgo para ECV.

Gráfica 4.11 Frecuencia de FRCV: Lp(a) sérica de acuerdo a nivel de riesgo y por género



## 4.2 RELACIÓN DE Lp(a) CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR NO LIPÍDICOS

### 4.2.1 Relación de niveles de colesterol transportados por Lp(a) de acuerdo al grupo etario y género

Para el análisis de la relación entre Lp(a) y los factores de riesgo no lipídicos, primero se determinó si existía o no diferencias en la concentración de Lp(a) por género y por grupo de edad, para lo cual se utilizó la prueba de Mann-Whitney y la de Kruskal-Wallis respectivamente, las mismas que revelaron que no hay diferencias estadísticamente

significativa en la concentración de Lp(a), por género una  $p=0,059$  y por grupo etario una  $p = 0,084$ . (Tabla 4.4 y 4.5).

Tabla 4.4 Comparación de los niveles de Lp(a) por género.

Medidas	Lp(a) Masculino	Lp(a) Femenino
Tamaño del Grupo (n)	48	147
Promedio ( $\bar{X}$ )	2.042	2.62
Error Típico (ET)	0.35	0.49
Desviación Estándar (S)	2.45	5.92
Mann-Whitney		$p = 0.084$

Tabla 4.5 Comparación de los niveles de Lp(a) por grupo etario

Medidas	Lp(a) de 40 a 49 años	Lp(a) de 50 a 59 años	Lp(a) de 60 – 70 años
Tamaño del Grupo (n)	14	49	132
Promedio ( $\bar{X}$ )	2.23	2.50	2.49
Error Típico (ET)	0.915	0.775	0.471
Desviación Estándar (S)	3.42	5.43	5.42
Kruskal – Wallis		$p = 0.059$	

Con base en esta información se procedió a relacionar la concentración de glucosa sérica con los niveles de Lp(a), encontrándose que en niveles de glucosa superiores a 126 mg/dL existe una asociación estadísticamente moderada ( $p = 0,050$ ) con los niveles de Lp(a) mayores a 2,5 mg/dl, por lo tanto el aumento de glucosa en algunos pacientes corresponde con un aumento de Lp(a) sérica. (Tabla 4.6)

Tabla 4.6. Asociación de Lp(a) en diabéticos tipo 2 y glucosa sérica.

Lp(a)	GLUCOSA EN AYUNAS				Total	
	NORMAL 75 – 100 mg/dl		EN RIESGO $\geq 126$ mg/dl			
NORMAL < 2.5 mg/dl	84	43%	70	36%	154	79%
CON RIESGO $\geq 2,5$ mg/dl	19	10%	22	11%	41	21%
Total	103	53%	92	47%	195	100%
Chi <sup>2</sup> (no paramétrico)	0.137	p=		0,05002		

#### 4.2.2 Relación entre la Lp(a) y los FRCV

Para la relación de Lp(a) con los FRCV (PAS, CC e IMC) se utilizó la regresión lineal logística multivariada. Los valores de PAS superiores a 140 mmHg se relaciona directamente con los niveles séricos de Lp(a), al presentar una asociación estadística moderada ( $p =$

0.05003). Para los demás factores CC e IMC no se presentó ninguna relación estadísticamente significativa.

Tabla 4.7. Regresión logística multivariada para Lp(a) y FRC (CC, IMC Y PAS)

Lp(a)	B	Error típico	Wald	GI	Significancia
<b>Intersección</b>	0,518	0,443	1,366	1	0,242
<b>Cintura mujeres &lt; 88 cm</b>	-0,121	0,481	0,063	1	0,082
<b>Cintura mujeres ≥ 88 cm</b>	0	-	-	0	-
<b>Cintura hombres &lt; 94cm</b>	-0,121	0,481	0,063	1	0,082
<b>Cintura hombres ≥ 94cm</b>	0	-	-	0	-
<b>IMC &lt; 25 kg/m<sup>2</sup></b>	-0,224	0,466	0,231	1	0,631
<b>IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup></b>	0	-	-	0	-
<b>PAS &lt; 140 mmHg</b>	0	-	-	0	-
<b>PAS ≥ 140 mmHg</b>	0,878	0,472	3,46	1	<b>*0,05003</b>
* datos significativos					

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se investigó la relación que existe entre los niveles de Lp(a) y los factores de riesgo cardiovascular no lipídicos (IMC, PAS, CC, glucosa en ayunas), en 195 pacientes hombres y mujeres con diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2 para lo cual se tomó en cuenta a la muestra en general y a la muestra agrupada por género, grupo etario y nivel de Lp(a) como factor de riesgo para ECV.

En términos generales se observó que alrededor del 35% de pacientes presentaron niveles de glucosa sérica de 126 mg/dL y más, llegando en algunos casos a sobrepasar los 300 mg/dL, tanto en el grupo de hombres como en el de mujeres, con un 12% de pacientes en el rango de glucosa alterada en ayuna (entre 110 y 126 mg/dL). Llama la atención estos niveles de glucosa sérica, sobretodo lo primeros pues al pertenecer a la Asociación de Diabético, los pacientes están en programas de cambio de estilo de vida, con guía nutricional y ejercicios y en algunos casos con tratamiento farmacológico para ayudar a regular su metabolismo.

De acuerdo al estudio de Egas y Valle realizado en el Hospital Luis Vernaza en el 2005, se enfatiza en la falta de seguimiento del tratamiento por parte de los pacientes y de un control más estricto, con datos similares a los del presente estudio. Además otro factor que pudo influir en estos datos es que los pacientes no se apegaron a las recomendaciones y preparación preanalítica solicitada para el estudio previo a la toma de muestra sanguínea, factor que solo podría haber sido controlado en pacientes hospitalizados y no como en este caso, al tratarse de pacientes ambulatorios en los que se confió en la palabra del paciente.

Otros datos que son importantes de resaltar son aquellos que se encuentran en el lado opuesto, es decir pacientes con niveles de glucosa sérica en el rango de hipoglicemia, el 8,4% con valores bajo los 70 mg/dL, valores que posiblemente se obtuvieron en los pacientes con tratamientos insulínicos o con hipoglicemiantes no adecuadamente controlados.

De acuerdo a los valores de IMC y de circunferencia de cintura que presentaron los pacientes diabéticos tipo 2, se observa la presencia de obesidad en el 74,4% y un incremento en la grasa abdominal principalmente en las mujeres (93,2%). Estos valores elevados se constituyen en factores que alteran aún más el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, creando resistencia insulínica a nivel pancreático y convirtiéndose en factores de riesgo para ECV como se afirma en los estudios de Cifuentes y colaboradores en el 2009.

Al revisar los datos obtenidos el 74,4 % del total de los pacientes obesos y con sobrepeso presentaron PAS mayor a 140 mmHg lo que concuerda con estudios realizados anteriormente, en los que obtuvieron diferencias en la presión arterial sistólica de acuerdo a la categoría de IMC y de la circunferencia de cintura. (García, Solís, Calderón, Luque, & Manrique, 2007). En los sujetos obesos y sobre todo aquellos que presentan obesidad central, se conoce que tienen mayor probabilidad de alcanzar niveles elevados de presión arterial, posiblemente por el incremento de la resistencia arteriolar periférica, causado por la resistencia insulínica que produce hipervolemia y aumento de la vasoconstricción. (Arosón & Rayfield, 2008).

La presión arterial tiende a aumentar con la edad para los dos géneros sin embargo en las mujeres el desequilibrio hormonal que sufren tras la menopausia puede aumentar la probabilidad de sufrir hipertensión con más frecuencia que los hombres de la misma edad. (Chiriboga, Jara, Moreno, & Estrella, 2011). Esto también se presentó en la muestra analizada ya que en el grupo de mujeres el 15,0 % presentaron hipertensión frente al 16,7 % de los hombres siendo mayor en el grupo de 50 a 59 años de edad.

De acuerdo a los datos que presenta la ALAD el nivel óptimo de glucosa sérica en los pacientes diabéticos debe estar entre 70 y 100 mg/dL, puesto que el control intensivo de la

glucemia en ayunas reduce significativamente la progresión de las complicaciones cardiovasculares y cerebro vasculares, además de indicar que la enfermedad se encuentra controlada. (Aschener & Segarra, 2010 ). Al revisar los datos de la presente investigación se encontró el 35,4 % de los participantes para los dos géneros alcanzaron niveles de glucosa sérica mayores a 126 mg/dL, lo que pone en evidencia un control inadecuado de la enfermedad como se dijo anteriormente, aumentando de esta forma el riesgo de presentar complicaciones crónicas a nivel micro y macro vascular.

En el caso de la Lp(a) los niveles circulantes varían principalmente por la influencia genética que presenta la apo (a) (Sorell Gomez, Bermudez, Bermudez, Rojas, & Chouri, 2007). En el estudio realizado por Pérez. A sobre “Alteraciones lipoproteicas en la DM -1 y DM-2. Efecto del control glucémico y ejercicio”, se determinó que los niveles de Lp(a) no se modifican significativamente con la edad, de igual forma con relación al género las concentraciones de Lp(a) no difieren significativamente, conclusiones que se asemeja a los datos encontrados en el presente estudio ya que se observó que los niveles de Lp(a) de alrededor del 80% de la muestra en hombres y mujeres están entre 0 y 2,50 mg/dL comprendidos en edades de 40 a 70 años incluyendo a pacientes normopeso y obesos.

La detección en este estudio del 21.1% de pacientes mujeres con niveles de Lp(a) entre los 2.5 mg/dL y 29 mg/dl y del 1,4% con niveles superiores a los 30 mg/dL, indican la presencia de un factor más de riesgo asociado al desarrollo de enfermedad cardiovascular, cerebro vascular y trombótica. Datos que se asemejan al estudio realizado por Klaya y Durlach, que explican el aumento de colesterol-Lp(a) por la glicosilación aumentada en pacientes diabéticos que prolonga la vida media de la lipoproteína, promoviendo la aterosclerosis y su acción trombótica – fibrinolítica; esta condición aparentemente podría estar influenciada por el desorden metabólico que presentan las mujeres especialmente si se encuentran cruzando la etapa menopáusica y posmenopáusica. (Klaya, Durlach, Bertin, & Monier, 1997). En el estudio realizado por Perez en 1999 indica que la Lp(a) no se encuentra aumentada en la diabetes y por lo tanto no se considera un factor para desarrollar ECV, datos que discrepan con el presente estudio, propablemente por las variaciones en el diseño del estudio, recolección y almacenaje de muestras, métodos empleados para la cuantificación de la lipoproteína y análisis estadístico.

Dentro de las relaciones propuestas en este estudio entre el colesterol de Lp(a) y los factores de riesgo cardiovascular no lipídicos, se destacaron dos relaciones bastante interesantes: el colesterol -Lp(a) e hipertensión, presentando una relación estadísticamente moderada y positiva ( $p = 0.05003$ ), concordando con estudios realizados por Graziani y Kung en el 2004, estos autores explicaron que las propiedades antitrombóticas de la Lp(a), hacen que compitan con el plasminógeno e interfiera con la lisis de los coágulos facilitando la deposición de colesterol en las lesiones del endotelio vascular, además estimula la proliferación de la células del músculo liso causando el estrechamiento luminal de los vasos sanguíneos (Marin Velasquez, 2002), induciendo rápidamente un aumento de la presión sanguínea siendo este uno de los primeros síntomas de un proceso aterosclerótico y un aumento de la presión arterial (Arosen & Rayfield, 2008).

La otra relación llamativa es la encontrada entre glucosa basal en ayunas mayor a 126 mg/dl y las concentraciones séricas de colesterol - Lp(a), dicha relación fue moderada y positiva ( $p = 0,05002$ ), datos que se asemejan con estudios realizados en Venezuela, Brasil y Colombia entre los años 2002 y 2006, en los que se indican que pacientes diabéticos con cifras de glucemias superiores a la normal presentan alteraciones cuantitativas y cualitativas en sus lipoproteínas especialmente en la Lp(a) gracias a la modificación en su comportamiento metabólico (Kang, Dominguez, Loyau, Miyata, & Duralach, 2007). La hiperglucemia prolongada causa la glicación de los grupos serina y treonina de la Lp(a) que conduce al aumento de las concentraciones séricas de esta lipoproteína en este tipo de pacientes. (Garcia, Solis, Calderon, Luque, & Manrique, 2007)

Con relación al resto de las variables analizadas en este estudio IMC y CC con el colesterol-Lp (a) se pudo determinar que estadísticamente no son significativos ( $p= 0.631$  IMC y  $0.802$  CC), que concuerda con datos reportados en diferentes estudios realizados a nivel de Latinoamérica que explican esta relación por la resistencia de la Lp(a) a variar su concentración sérica pese a los cambios en estilo de vida, dieta, pérdida de peso y ejercicio.(Barre,2003)

## CONCLUSIONES

La finalidad de este estudio fue detectar y cuantificar la Lp(a) sérica, partícula altamente aterogénica en pacientes diabéticos tipo 2, así como la relación con otros marcadores no lipídicos, a través de la separación electroforética en gel y la medición del contenido de colesterol en la misma, C-Lp(a).

De los resultados obtenidos en esta muestra de pacientes con DM-2 se puede concluir:

- Un grupo de pacientes presentó obesidad e hipertensión arterial lo que lleva al paciente a ser diagnosticado de síndrome metabólico, con un pronóstico poco favorable por las complicaciones crónicas que desarrollará en el futuro, siendo evidente el alto riesgo en que se encuentran para presentar un evento coronario en los próximos diez años de mantener estos desórdenes metabólicos.
- En la muestra analizada llamó la atención la presencia de niveles de glucosa sérica elevados pese a que se encontraban en un grupo de apoyo y control, lo que hace a estos pacientes más vulnerables a sufrir complicaciones crónicas en el futuro. También hay que tomar muy en cuenta la presencia de Lp(a) en concentraciones sobre los 2.5 mg/dl, en estos mismos pacientes provocando el aumento en un 10 a 30 % la posibilidad de sufrir un daño cardiovascular, cerebrovascular y trombótico, debido a su propiedad aterogénica.

- De las relaciones entre Lp(a) y factores de riesgo cardiovascular no lipídicos se destacaron: la relación entre glucosa en concentraciones mayores a los 126 mg/dL e hipertensión; datos que se volvieron altamente predictivos para estos pacientes debido a que están predispuestos a aumentar la probabilidad de sufrir un daño cardiaco y cerebral en un corto tiempo especialmente porque al aumentar la glucosa o presión arterial aumentara la Lp(a).
- Los resultados obtenidos en estos pacientes diabéticos indican que en un grupo importante de estos no se están alcanzando los objetivos recomendados por el ATPIII-NCEP, especialmente en las mujeres, por lo que deben dirigirse los esfuerzos por controlar y asegurar a disminuir los factores de riesgo no solo con respecto a la hiperglicemia sino también a las dislipidemia asociadas y presencia de Lp(a) volviéndose esta última como una alternativa de determinación por parte del laboratorio, conjuntamente con los factores de riesgo cardiovascular convencionales contribuyendo significativamente con la clasificación del tipo de riesgo aterotrombogénico relacionado con la presencia de distintos niveles de Lp(a).
- Es de esperar que a través de las investigaciones que se realicen en el presente y futuro se puedan ir aclarando los complejos mecanismos que se alteran en el metabolismo del ser humano y desencadenan en patologías con disminución de la calidad de vida y graves consecuencias y que permitan encontrar mejores medidas de control pero sobretodo de prevención.

## RECOMENDACIONES

1. Tomar en cuenta el tiempo de duración de la enfermedad, ya que de esta manera se podría explicar mejor la incidencia alta de problemas cardiovasculares que se podrían presentar en estos pacientes.
2. Realizar un perfil hormonal femenino especialmente de estrógenos para interpretar de mejor manera los niveles de Lp(a), debido a su influencia sobre las concentraciones de esta lipoproteína.
3. Realizar estudios similares con un control más estricto de las variables preanalíticas y el conocimiento certero del tratamiento en el que se encuentra cada paciente para evaluar el valor de esta lipoproteína en diferentes condiciones comparando con un grupo control.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Albers, J., & Koschinski, M. (2007). Evidence mounts for a role of the kidney in lipoprotein (a) catabolism. *Kidney internacional*. 71, 961-962. doi:10.1038/sj.ki.5002240
2. Arson, D., & Rafael, E. (2008). Diabetes y obesidad: Aterosclerosis y enfermedad coronaria. *Revista de endocrinología y cardiología*, 354- 500. Recuperado de: <http://www.sediabetes.org/resources/revista/00002720archivorevista.pdf>
3. Aschener, P., & Segarra, P. (2003). Guías de la ALAD de diagnóstico control y tratamiento de Diabetes Mellitus tipo 2. *Revista de la Asociación Latinoamericana de Diabetes*. 1-77. Recuperado de: [http://www.revistasad.org.ar/acceso/sad\\_vol10/guia.pdf](http://www.revistasad.org.ar/acceso/sad_vol10/guia.pdf)
4. Barre, E. A. (2003). A more detailed fatty acid composition of human lipoprotein (a): a comparison with low density lipoprotein. *Rev Chem Phys Lipids*. 99-105. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12637168>
5. Bermudez, V., Pirela, M., Cabrera de Bravo, D., Mengual Moreno, C., & Cano Ponce, E. (2007). Lipoproteína (a) en una población urbana de Venezuela : evidencia de su crecimiento por deprivación estrogénica. *Anales de Medicina Interna*. 24, 324-327. Recuperado de: <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v24n7/original3.pdf>
6. Bradan, N., Llanos, C., Barrios, B., Escalante Marassi, A., & Ruiz Diaz, D. (2006). Lipoproteínas. *Rev de la Universidad del Nordeste*. Guías de clase. Recuperado de: <http://www.med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/lipoproteinas.pdf>
7. Carmena, R. (2008). Riesgo elevado de disfunción lipoproteica en la Diabetes mellitus tipo 2. *Revista Española de Cardiología*, 18(3), 19C26C. doi: 10.1016/S1131-3587(08)73551-9
8. Castelo, L., & Licea, M. (2010). Dislipoproteinemia y diabetes mellitus. *Revista Latinoamericana de Endocrinología*. 16(2), 60-76. Recuperado de: <http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/viewArticle/154>
9. Chiriboga, D., Jara, N., Moreno, J., & Estrella, W. (2011). Plan Estratégico Nacional para la Prevención y control de Enfermedades Crónicas no Transmisibles. *Revista de MSP del Ecuador*. 60-80.
10. Cifuentes, B., & Arson. (2009). Diabetes Mellitus tipo 2: Un problema de salud pública. *Publicaciones del Ministerio de Salud Pública*. 8 (11), 16- 24.

11. Cimino Jr, R. (2011). Helena Laboratories. America del Sur. Recuperado de [www.helenalaboratories.com](http://www.helenalaboratories.com)
12. Danesh, J., & Sebat, E. (2009). Risk factors: Lipoprotein (a) and coronary disease moving closer to causality. *Nature Reviews Cardiology*. 6, 565-567. doi:10.1038/nrcardio.2009.138
13. Durand Rivera, A. (2005). Diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la Universidad del Valle de Mexico*, 40-60. Recuperado de: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071822282011000200010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071822282011000200010&script=sci_arttext)
14. Egas, D., & Valle, R. (2006). Determinación de resistencia a la insulina en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y el análisis de perfil lipídico. *Revista de Medicina (Guayaquil)*. 11(4), 287-293. Recuperado de: <http://rmedicina.ucsg.edu.ec/ojs/index.php/medicina/article/view/333/294>
15. Enriquez, & Matas. (2001). Lipoproteína (a) fisiología consideraciones terapéuticas. *Medicina Clínica*. 116(19), 746-749. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753\(01\)71972-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753(01)71972-0)
16. Enriquez, L., & Matas, P. (2008). Lipoproteína (a) fisiopatología consideraciones clínicas y terapéuticas. *Revista de endocrinología y Nutrición* 19-26. Recuperado de [www.elsevier.es/.../revistas/.../lipoproteina-a-fisiopatologia-consideracion](http://www.elsevier.es/.../revistas/.../lipoproteina-a-fisiopatologia-consideracion).
17. Francisco, G., & Chacon, P. (2002). Variabilidad biológica de la lipoproteína a en la población diabética. *Revista de Diabetología*, 43-46. Recuperado de: <http://www.sediabetes.org/resources/revista/00011561archivoarticulo.pdf>
18. García Quintanilla, C., & Zuñiga Guajaro, S. (2010). El efecto incretina y su participación en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 48(5), 509-520. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2010/im105h.pdf>
19. Guevara, J., Knapp, R., Honda, S., Northup, S., & Morrisset, J. (1992). A structural assessment of apo(a) protein of human lipoprotein (a). *Proteins*. 12(2), 88-99. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1318546>
20. Gonzales, L., & Pereira, N. (2009). Tratamiento agresivo hiperlipemiente en enfermedad cardiovascular. (Revisión). *Revista Costarricense de Cardiología*. 9(2), 60-67. Recuperado de: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rcc/v9n2/3720.pdf>
21. Gorban de Lapertosa, F., Ovando, & Aguirre. (2010). Estudio de la relación de Lp(a) en hombres y mujeres de 50 años y su relación con riesgo cardiovascular en Corrientes Argentina. *Rev Panamericana de Cardiología*. 40-45. Recuperado de: <http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=68478>

22. Hadad Nasiff, A., & Anglés, C. E. (1997). Lipoproteína (a) trombogénesis y aterogénesis. (Revisión) . *Revista Cubana Hematología Inmunología*. 13(1), 6 -18. Recuperado de: <http://www.alfinal.com/Salud/lipoproteinaa.php>
23. Hadad, T., Nasiff, & Angéles Cano. (1997). Lp (a) y su correlación con niveles de glucosa sérica. *Rev Panamericana de la Salud*. 50-89.
24. Haralampos, J., Milionis, A., Winder, & Dimitri, P. (2000). Lipoprotein (a) and stork . *J.Clinic.Patho*, 487-496. Recuperado de: [www.lef.org/.../coronary\\_artery\\_disease\\_atheroscler](http://www.lef.org/.../coronary_artery_disease_atheroscler).
25. Higara , T., Kobayashi, T., Okubo, M., Nakanishi, K., Sugimoto , T., & Ohashi, Y. (1995). Prospective study of lipoprotein (a) as a risk factor for atherosclerosis cardiovascular disease in patients atherosclerotic cardiovascular disease in patients whit diabetes . *Rev Diabetes Care*, 241-244. Recuperado de: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) ›
26. Jane, S., Schultz, T., & Shreffler, T. (2002). Genetic and antigenic studies and partial purification of human serum lipoprotein carrying the Lp antigenic determinant. *Rev Diabetes*, 30-40. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC305422/>
27. Kang, C., Dominguez, M., Loyau, S., Miyata, T., & Duralach, V. (2007). Lp(a) particles mold fibrin-binding properties of apo(a) in size dependent manner. *Rev Arterioscler Throm Vasc* , 1232-1238. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12117743>
28. Klaya, F., Durlach, V., Bertin, E., & Monier, F. (1997). Evaluation of serum glycosylated lipoprotein(a) levels in non insulin-dependent diabetic patients. *Clinical Biochem*, 227-230. Recuperado de: <http://eurekamag.com/research/031/327/evaluation-serum-glycosylated-lipoprotein-levels-noninsulin-dependent-diabetic-patients.php>
29. Kostner, G., Avogadro , P., & Cazzolato, G. (1981). Lipoprotein Lp(a) and the risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis. Revis of Cardiology*, 38.51-61. Recuperado de: <http://www.atherosclerosis-journal.com/article/0021-9150%2881%2990103-9/abstract>
30. Lackner, G., Boerwinkle, E., Leffert, C., Rahiming, T., & Hobbs, H. (1991). Molecular basis of apolipoprotein (a) isoform size heterogeneity as revealed by pulsed-field gel electrophoresis . *Rev Clin Invest*, 61-87. Recuperado de: <http://www.jci.org/articles/view/115248>
31. Lazaro, E., Zayas, A., Pereira Roca, G., & Aguilar Betancurt, A. (2003). Lipoproteína (a) estructura, metabolismo, genética y mecanismos patogénicos. *Rev Cubana Invest Biomed*, 32-40. Recuperado de: [www.sld.cu/revistas/ibi/vol22\\_1\\_03/ibi05103.pdf](http://www.sld.cu/revistas/ibi/vol22_1_03/ibi05103.pdf)
32. Lebovitz, H. E. (2000). Type II Diabetes: An Overview . *Clin Chem* , 1339-1345. Recuperado de: <http://link.springer.com/article/10.1007/s001250051058#page-1>

33. Marin Velasquez, A. (2002). Estudio comparativo de los niveles sericos de Lp(a) y perfil lipídico en pacientes con Síndrome Coronario Agudo . *Revista de la Universidad de Oriente Venezuela* , 1- 73 .Recuperado de:
34. Mc Lean, J., Kuan, W., Eaton, D., Chen, E. Y., Flees, G. M., Scanu, A. M., y otros. (2010). Human apolipoprotein (a) cDNA sequence of an apolipoprotein homologous to plasminogen . *Rev Nature*, 132 - 137 .Recuperado de: <http://www.nature.com/nature/journal/v330/n6144/abs/330132a0.html>
35. Mora Frenk, J., Tapia Conyer, R., & Velaquez Monroy, O. (2002 ). Manual de procedimientos de Toma de medidas clínicas y antropométricas en el adulto y adulto mayor . *Rev de la Secretaria de Salud de Mexico* , 1- 30 .Recuperado de: [www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7518.pdf](http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7518.pdf)
36. Nordestgaard, B. (2010). New recommendations from the European Atherosclerosis Society consensus panel resolve controversy about lipoprotein(a) and cardiovascular risk. *Rev European Atherosclerosis Society*, 50-60. Recuperado de: <http://www.eas-society.org/Consensus-Position-Paper-Initiative.aspx>
37. Organización Mundial de la Salud OMS para Ecuador . (10 de Agosto de 2009). *Organización Mundial de la Salud para Ecuador*. Recuperado el 18 de Junio de 2011, de <http://www.who.int/country/ecu/es>
38. Pagana, K., & Pagana, T. (2006). *Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio* . Madrid: Mosby Doymad Libros .
39. Pereira, G. (2010). Niveles de lipoproteína a en mujeres de mediana edad Informe preliminar . *Revista cubana de Endocrinología* , 194-200. Recuperado de: [http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol10\\_2\\_99/end04299.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol10_2_99/end04299.htm)
40. Prudente , I., & Gentilli, P. (2007). Lipoproteína (a) ,apo b y perfil lipídico básico. *Redalcy Red de Revistas científicas de América Latina Caribe España y Portugal*, 42-48. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65111118007>
41. Rodríguez, N. A. (2007). Alteraciones en genes del metabolismo lipídico y enfermedad cardiovascular . *Rev Scielo Archivos Venezolanos de Farmacología y terapéutica* , 1-5. Recuperado de: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-02642007000100002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-02642007000100002&script=sci_arttext)
42. Rosby, O., & Berg, K. (2000). Lp(a) gen: interaction between the apolipoprotein (a) size( kringle IV repeat) polymorphism and pentanucleotide repeat polymorphism influences Lp (a) lipoprotein level. *J Intern Med*, 139 - 152. Recuperado de: <http://14.139.159.4:8080/jspui/bitstream/123456789/8477/1/Swetha%20R%20Biochem%20KIMSB%202013.pdf>

43. Roussel, H. M. (1999). Manual Internacional de Hipertensión . *Rev Panamericana de la Salud*, 10 - 14 .Recuperado de: [http://www.femeba.org.ar/fundacion/quienessomos/Novedades/manual\\_hipertension\\_arterial\\_junio\\_2006.pdf](http://www.femeba.org.ar/fundacion/quienessomos/Novedades/manual_hipertension_arterial_junio_2006.pdf)
44. Sanchez Recaldea, A., & Kaskia , J. C. (Junio de 2010). *Revista Española de Cardiología*. Recuperado el 15 de Febrero de 2011, de <http://www.revispcardiol.org/es/revistas/revist-esp%C3%B1ola-cariologia-25/diabetes-mellitus-inflamci3n-ateroesclerosis-coronaria-perspectiva-actua-130133868-articulo-revision-2001>
45. Santica, M., Marcovina, Marlys, L., Koschinsky, Albers, & Skarlatos, S. (2003). Report of National Heart,Lung and Blood Institute Workshop on Lipoprotein (a) and Cardiovascular Disease: Recent Advances and Future Directions. *Clinical Chemistry*, 1785-1796. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578310>
46. Scanu, O., Nakajima, K., & Edelstein, C. (2001). Apoprotein (a): Structure an Biology. *Frontieres in Bioscience*, 546-554.Recuperado de: <http://eurekamag.com/research/034/428/apolipoprotein-structure-biology.php>
47. Sorell Gomez, L., Bermudez, F., Bermudez, V., Rojas, E., & Chouri, A. (2007). Lipoproteina (a) un nuevo antígeno aun un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular . *Revista Latinoamericana de Hipertension* , 165-178.Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=170216973002>
48. Syed , A., & Abdul . (2009). Niveles de Lipoproteina (a) en la Diabetes Mellitus. *Rev Latinoamericana de la Salud* , 50-60.Recuperado de: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol13\\_1\\_97/hih01197.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol13_1_97/hih01197.htm)

## ANEXO 1

### Consentimiento informado

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR – ESCUELA DE BIOANÁLISIS

El Investigador

Señor (a): Como usted ha sido informado la Diabetes Mellitus tipo 2 es una enfermedad crónica que puede tener consecuencias a largo plazo, siendo una de las más frecuentes la enfermedad cardiovascular. Para ayudar al médico a detectar a tiempo la posibilidad de que un paciente diabético tenga un evento cardiovascular es necesario realizar exámenes de sangre entre los que se encuentran los del perfil lipídico. Actualmente se han incorporado nuevos exámenes de laboratorio, entre estos detectar el subtipo de partículas de LDL (lipoproteína de baja densidad), HDL (Lipoproteína de alta densidad y Lipoproteína (a), que unidos a los exámenes de rutina, se sabe aumentan la posibilidad de detectar los riesgos de enfermedad cardiovascular.

Invitación:

Para estudiar la conveniencia de la introducción de estas nuevas pruebas en la obtención del nivel de riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes diabéticos y que favorecen el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes, le invito a participar en este proyecto de investigación realizado en la PUCE.

¿Qué se le solicita a usted?

Participar libre y voluntariamente en el proyecto.

Firmar el consentimiento informado.

Autorizar la toma de muestras sanguíneas por venopunción (un tubo de sangre sin anticoagulante).

Sujetarse a las indicaciones preanalítica previas a la toma de muestra sanguínea.

Autorizar la toma de datos sociodemográficos y clínicos que se requieran para el estudio.

La colaboración en acudir a la hora y día indicada para realizar la toma de muestra y de datos.

La toma de muestra sanguínea por venopunción:

Durante este examen un miembro del equipo le tomara una muestra sanguínea (sangre venosa, en un tubo sin anticoagulante) preferiblemente del pliegue del codo, con aguja de toma múltiple de 21mm, respetando las normas de bioseguridad (guantes, vestimenta, equipo nuevo y desechable por paciente, desinfección y desecho de material) y sin daño para la integridad del paciente.

Los exámenes del Laboratorio:

La muestra sanguínea será procesada para separar el suero, con este material se procederá a realizar los siguientes análisis: glucosa, colesterol total, triglicéridos, HDL – colesterol, LDL – colesterol y subfraccionamiento de lipoproteínas HDL y LDL así como la detección de Lp (a).

Otros Datos:

Se le solicitarán datos sociodemográficos así como clínicos directamente de la fuente (paciente) o desde su historial médico.

Se medirá la circunferencia abdominal utilizando para ello una cinta métrica.

Riesgos:

La extracción de sangre venosa puede causar un pequeño dolor cuando se introduce la aguja en su brazo, así como también un ligero hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel) después de la punción. No existe ningún otro riesgo durante este procedimiento. Para la bioseguridad el personal a cargo utilizará la vestimenta y equipo adecuado para garantizarla.

Los exámenes especiales a realizar a su muestra sanguínea no implica riesgo alguno para usted.

Confidencialidad:

Los nombres de los pacientes no aparecen ni en el tubo de extracción de muestra ni en la base de datos para el análisis estadístico de los mismos, ni en las publicaciones que se realicen de los resultados del estudio, pues se codificará cada muestra. Además el equipo a cargo de esta investigación firma un compromiso de confidencialidad de los nombre de los pacientes.

Sus datos únicamente serán enviados a su médico especialista en el Hospital Enrique Garcés quien interpretará los resultados obtenidos y le informará sobre los mismos.

#### Beneficios:

Los resultados obtenidos con esta investigación incrementarán las posibilidades de identificar los subtipos de partículas aterogénicas de LDL, HDL y Lipoproteína (a) en las pruebas especiales a realizarse en sus muestras sanguíneas, permitiendo de esta manera ayudar a su médico con más datos para prevenir complicaciones cardiovasculares, diagnosticarlas o tratarlas. Así su participación en este estudio, podría ofrecerle mayores posibilidades de tener un diagnóstico y seguimiento apoyado en más pruebas de laboratorio.

Su aporte beneficiará a la comunidad, pues hace posible la introducción de nuevas pruebas de laboratorio en la rutina del mismo y así ofertar a los pacientes diabéticos ayudas diagnósticas para prevención y tratamiento de posibles o actuales enfermedades cardiovasculares.

#### Costos:

Los exámenes especiales a realizarse para identificar los subtipos de partículas aterogénicas de LDL, HDL y Lipoproteína (a) en su organismo, no tienen costo alguno para usted. Así como su participación voluntaria no le traerá ningún beneficio económico más que el de gozar de una mejor calidad de vida.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo \_\_\_\_\_

he leído y escuchado con atención la finalidad, los requerimientos de toma de muestra sanguínea por venopunción, de datos sociodemográficos y clínicos, de los exámenes por el laboratorio que se realizarán en mi muestra biológica los riesgos y los beneficios de entrar en este estudio: “subfraccionamiento de LDL, HDL y Lipoproteína (a) por electroforesis en gel en pacientes diabéticos tipo 2 para la prevención y mejora en el tratamiento de enfermedad cardiovascular”.

Declaro libremente y voluntariamente que acepto participar en el proyecto de investigación y que se realicen los procedimientos indicados. También me siento libre de seguir o no las indicaciones o tratamiento que se establezcan.

Se me ha indicado que la presente investigación no representa riesgo alguno para mi integridad personal, que se respetará mi identidad y puedo solicitar mayor información acerca del presente estudio si lo deseo.

Su firma (huella) abajo indica que usted ha leído y está de acuerdo con la información arriba explicada.

\_\_\_\_\_  
Firma (o huella digital)

Fecha: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Testigo (firma)

Fecha: \_\_\_\_\_

Teléfono del paciente: \_\_\_\_\_

Dirección del paciente \_\_\_\_\_

**ANEXO 2**  
**Datos socio demográficos y clínicos**

DATOS DE INGRESO DEL PACIENTE	<div style="border: 2px solid black; display: inline-block; padding: 2px 10px;"># de muestra:</div>
Apellidos:..... Nombres:..... Edad..... Fecha de nacimiento..... CI: ..... Género:.....	

<b>Examen Físico</b>	
Peso                      Kg	Talla                      cm
Perímetro de la cintura:	IMC:
Presión arterial sistólica:	

**ANEXO 3**

**Antecedentes patológicos familiares y personales**

**ANTECEDENTES PATOLOGICOS FAMILIARES:**

**Diabetes Mellitus:** .....

**Hipertensión Arterial:** .....

**Dislipidemia:** .....

**ECV:** .....

**Enfermedad Isquémica:** .....

**Cáncer:** .....

**Otros:** .....

**ANTECEDENTES PERSONALES**

**Habito tabáquico:**

**No (nunca ha fumado).....**

**Si (Indicar que tan seguido lo hace y cuántos).....**

## **ANEXO 4**

### **Procedimientos para la toma de medidas antropométricas**

#### **a) Criterios para medir el perímetro de cintura:**

Localizar la parte más alta de la cresta ilíaca. Colocar la cinta de medir en un plano horizontal alrededor del abdomen justo por encima del nivel de la cresta ilíaca. Antes de leer la cinta de medir asegurarse de que la cinta está ceñida pero sin comprimir la piel y está paralela al suelo. Se hace la medida al final de una espiración normal (NIH, 2000). Preferentemente debe ser en ayunas pero en caso de no ser posible la medición de la visita basal y de la visita final deben realizarse en las mismas condiciones

#### **b) Procedimiento para la medición de presión arterial**

La medición de la presión arterial se efectuará de acuerdo a los procedimientos que a continuación se describen:

El paciente deberá abstenerse de fumar, tomar productos cafeinados y refrescos de cola, al menos 30 minutos antes de la medición. (Roussel, Manual Inter (Roussel, Manual Internacion de Hipertención , 1999)

Debe estar sentado con un buen soporte para la espalda, su brazo derecho descubierto y flexionado a la altura del corazón.

La medición podrá realizarse en posición supina, de pie o acostado.

La medición se efectuará después de 5 minutos de reposo por lo menos.

Se utilizará esfigmomanómetro mercurial recientemente calibrado. (Organizacion Mundial de la Salud OMS para Ecuador , 2011)

Se utilizará un brazalete (manguito) de tamaño adecuado, para asegurar una medición precisa, ubicándose a la altura del corazón. La cámara de aire (globo) debe cubrir al menos el 3/4 partes de la longitud del brazo y al menos el 80% de la circunferencia del brazo; algunos adultos con gran masa muscular requerirán un manguillo de mayor tamaño. (Roussel, Manual Internacion de Hipertención , 1999)

#### **c) Medición de la presión arterial (técnica)**

La medición de la presión arterial se efectuará de acuerdo a los procedimientos que a continuación se describen:

El paciente deberá abstenerse de fumar, tomar productos cafeinados y refrescos de cola, al menos 30 minutos antes de la medición. (Roussel, Manual Inter (Roussel, Manual Internacion de Hipertención , 1999)

Debe estar sentado con un buen soporte para la espalda, su brazo derecho descubierto y flexionado a la altura del corazón.

La medición podrá realizarse en posición supina, de pie o acostado.

La medición se efectuará después de 5 minutos de reposo por lo menos.

Se utilizará esfigmomanómetro mercurial recientemente calibrado. (Organizacion Mundial de la Salud OMS para Ecuador , 2011)

Se utilizará un brazalete (manguito) de tamaño adecuado, para asegurar una medición precisa, ubicándose a la altura del corazón. La cámara de aire (globo) debe cubrir al menos el 3/4 partes de la longitud del brazo y al menos el 80% de la circunferencia del brazo; algunos adultos con gran masa muscular requerirán un manguillo de mayor tamaño. (Roussel, Manual Internacion de Hipertención , 1999)

#### **d) Talla (estatura)**

*Concepto:* Es la altura que tiene un individuo en posición vertical desde el punto más alto de la cabeza hasta los talones en posición de “firmes”, se mide en centímetros (cm). (Organizacion Mundial de la Salud OMS para Ecuador , 2011)

##### *Material*

- Estadímetro portátil.
- Cinta adhesiva.
- Hoja de registro de antropometría.

##### *Método*

Instalación del estadímetro: Localice una pared y un piso lo más liso posible, sin zoclo, ni grada, no inclinado ó sin desnivel. La pared y el piso deben formar un ángulo recto de 90°.

Para colocarlo se requieren dos personas. Una de ellas sitúa el estadímetro entre el piso y la pared, formando un ángulo de 90° sin soltarlo. La otra extiende la cinta métrica del estadímetro en forma vertical en dirección hacia el techo.

Cuando la persona que sostiene el estadímetro indique que la cinta llegó a cero, ésta debe fijarse en la pared con cinta adhesiva. (Organización Mundial de la Salud OMS para Ecuador , 2011)

Una vez fijo el estadímetro portátil, la persona que lo sostiene en el piso puede soltarlo y éste se enrollará solo. El estadímetro entonces está listo para ser utilizado.

Marque en una hoja la forma correcta en que deben ir los pies y pegue la hoja al piso por debajo del estadímetro portátil.

Los pies marcados deben quedar centrados en medio de la base del estadímetro.

#### *Procedimientos para la medición*

- Informe al paciente las actividades que se van a realizar para que esté enterado y sea más fácil medirlo.
- Informe a la familia o familiar, las actividades que se van a desarrollar para que estén tranquilos.
- Indique al sujeto que se quite el calzado, gorras, adornos y se suelte el cabello. Si es necesario ayúdele.
- Coloque a la persona debajo del estadímetro de espalda a la pared con la mirada al frente, sobre una línea imaginaria vertical que divida al cuerpo en dos hemisferios.
- Verifique que los pies estén en posición correcta.
- Asegúrese que la cabeza, espalda, pantorrillas, talones y glúteos estén en contacto con la pared y sus brazos caigan naturalmente a lo largo del cuerpo.
- Acomode la cabeza en posición recta coloque la palma de la mano izquierda abierta sobre el mentón del sujeto, y suavemente cierre sus dedos.

- Trace una línea imaginaria (Plano de Frankfort) que va del orificio del oído a la base de la órbita del ojo. Esta línea debe ser paralela a la base del estadímetro y formar un ángulo recto con respecto a la pared.
- Al hacer la lectura asegúrese que los ojos del observador y la escala del equipo, estén a la misma altura.
- Si la marca del estadímetro se encuentra entre un centímetro y otro, anote el valor que esté más próximo; si está a la mitad, se tomará el del centímetro anterior.
- Baje el estadímetro y tome cuidadosamente la lectura en centímetros. Hágalo por triplicado y anote el promedio de las 3 mediciones en la hoja de registro de antropometría.

#### **e) Medición de peso**

*Concepto:* Es la medida de la masa corporal expresada en kilogramos.

**Material**

Báscula para adulto portátil, electrónica con capacidad de 150 Kg. y precisión de 200 g.

**Método**

Instalación de la báscula.

Localice una superficie plana horizontal y firme para colocarla. No se coloque sobre alfombra ni tapetes. Asegúrese de que la unidad de peso marque Kg. Esto se logra colocando el selector de modo peso en la modalidad de Kg.

Calibre la báscula antes de empezar el procedimiento. Antes de usar la báscula oprima el botón de reposición situado en el borde inferior derecho de la plataforma para que marque "0.0"

**Procedimiento**

La medición se realizará con la menor ropa posible y sin zapatos. Se pide al sujeto que suba a la báscula colocando los pies paralelos en el centro, de frente al examinador. Debe estar erguido, con la vista hacia el frente, sin moverse y con los brazos que caigan naturalmente a los lados. Si la pantalla muestra algo que no sea "0.0" asegúrese de que la báscula esté expuesta a una fuente de luz suficiente.

## ANEXO 5

### Medición de cintura ó circunferencia Abdominal e IMC

*Concepto:* Es la medición de la circunferencia de la cintura.

Permite conocer la distribución de la grasa abdominal y los factores de riesgo a que conlleva esto.

*Material:* Cinta métrica.

*Método:*

Trace una línea imaginaria que parta del hueco de la axila hasta la cresta iliaca. Sobre ésta, identifique el punto medio entre la última costilla y la parte superior de la cresta iliaca (cadera). En este punto se encuentra la cintura.

*Procedimiento:*

Coloque la cinta métrica en el perímetro del punto antes mencionado y proceda a la medición de esta circunferencia, con el individuo de pié y la cinta horizontal. Evite que los dedos del examinador queden entre la cinta métrica y el cuerpo del paciente, ya que esto conduce a error. (Mora Frenk, Tapia Conyer, & Velaquez Monroy, 2002 )

### Índice de Masa Corporal (Índice de Quetelet)

*Concepto:* Es la relación que existe entre el peso y la talla. Es un indicador de bajo peso, peso normal, sobrepeso y obesidad en adultos y ancianos. (Mora Frenk, Tapia Conyer, & Velaquez Monroy, 2002 )

Método

El IMC se obtiene al dividir el peso en kilogramos entre la estatura en metros elevada al cuadrado, como se observa en la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Talla m}^2}$$

#### Procedimiento

Mida la talla (estatura) y el peso de la persona aplicando los procedimientos antes referidos.  
(Mora Frenk, Tapia Conyer, & Velaquez Monroy, 2002 )

## ANEXO 6

### Procedimiento para la venopunción

1. Trasladar todo el material junto al paciente e informar al mismo de lo que vamos a realizar;
2. Seleccionar el sitio de venopunción (En adultos las extremidades superiores, o si es necesario, subclavia o yugular, deberán ser preferidos a extremidades inferiores).
3. Si no se cuenta con ayuda extra de un colaborador, abrir los contenedores de gasa o algodón que se supone usarán, de modo que se puedan tomar sin contaminarlas, ni contaminar las manos del operador.
4. Tratar de que la técnica de venopunción se realice con dos operadores, uno de los cuales actuará como "operador limpio" (el que efectuará la venopunción propiamente dicha), y el otro como "operador sucio" (el que colabora en la entrega del material a utilizar).
5. Proceder al lavado de manos con solución jabonosa antiséptica.
6. Colocarse guantes.
7. Realizar la antisepsia de la piel con las torundas o gasas embebidas en el antiséptico elegido. Puede hacerse con movimientos circulares desde el centro a la periferia ("en espiral") o bien de arriba hacia abajo con distintas gasas, que se desechan después de cada pasada ("en banda") evitando pasar dos veces por el mismo sitio. Permitir que la solución antiséptica se seque.
8. Inserte la aguja con el bisel hacia arriba formando un ángulo de unos 30°.
9. Observe si aparece sangre en el cono de la aguja.
10. Aspire suavemente, hasta obtener la muestra de sangre requerida.
11. Retire la ligadura o cinta elástica.
12. Retire aguja y presione con la torunda de algodón hasta el cese de sangrado.
13. Deseche el material al contenedor de residuos Biológicos Infecciosos-Punzocortantes

## ANEXO 7

### Técnica para electroforesis de lipoproteínas

QuickGel® Cholesterol

#### INTENDED USE

The QuickGel Cholesterol electrophoresis system is for use in the quantitative determination of cholesterol and cholesterol esters in serum lipoproteins using the SPIFE 2000/3000 or the QuickGel chamber. The system is intended for the assessment of the cholesterol content of the high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL), and Lp(a)-C, when present in concentrations greater than 2.5 mg/dL. However, in some patients Lp(a)-C may not be present at concentrations that are detectable by electrophoresis.

Cat. No. 3443 - for use with SPIFE 2000/3000.

Cat. No. 3543T - for use with QuickGel Chamber.

#### SUMMARY

The relationship of HDL Cholesterol to coronary heart disease (CHD) was reported by Barr et al., 1951<sup>1</sup> and by Miller and Miller in 1975<sup>2</sup>. The work of Castelli et al.,<sup>3-6</sup> focused attention on HDL cholesterol assessment as the definitive laboratory test in determining the risk of coronary heart disease. The cholesterol content of the lipoprotein fractions has been determined by ultracentrifugation<sup>7</sup>, selective precipitation<sup>8</sup>, and electrophoresis on several media<sup>9</sup>.

Clinical laboratory measurement of the serum lipoproteins is primarily due to their predictive association with risk of CHD. Current practice guiding laboratory measurement of total serum cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and LDL cholesterol is derived from recommendations of expert panels convened by the National Cholesterol Education Program (NCEP). The expert panels considered epidemiological, clinical and intervention studies in developing the recommendations for treatment decision cutpoints and recommended workup sequences for adults and children.

The clinical recommendations from the NCEP panels direct clinical laboratories to perform measurements of total, HDL and LDL cholesterol and triglycerides. The triglycerides are

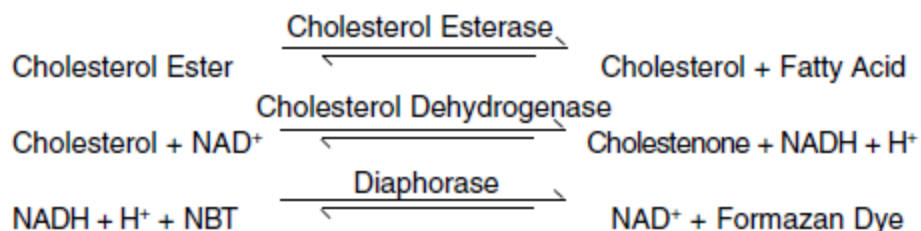
primarily associated with chylomicrons, very low density (VLDL) and intermediate density (IDL) lipoproteins thought to be atherogenic, but the association of triglycerides with risk of coronary heart disease in epidemiological studies is ambiguous.

LDL, as the validated atherogenic lipoprotein based on its cholesterol content, is the primary basis for treatment decisions in the NCEP clinical guidelines<sup>10</sup>. The major protein component of LDL is apolipoprotein B100 (apoB) which has been measured previously by immunoassay. The common research method for accurate LDL cholesterol quantitation and the basis for the reference method is designated beta-quantification, beta referring to the electrophoretic term for LDL. The beta-quantification technique involves a combination of ultracentrifugation and chemical precipitation<sup>11,12</sup>. The beta-quantification method gives a so-called “broad cut” LDL which includes the Lp(a)-C lipoprotein<sup>13,14</sup>, often referred to as “lipoprotein little a”.

The NCEP panel concluded that alternative methods are needed for routine diagnostic use, preferably ones which directly separate LDL for cholesterol quantitation.<sup>15</sup> One such direct method involves electrophoresis. Electrophoretic methods (reviewed in Lewis and Oppl<sup>16,17</sup>) have a long history of use in qualitative and quantitative analysis of lipoproteins. Electrophoresis not only allows separation and quantitation of major lipoprotein classes, but also provides a visual display useful in detecting unusual or variant patterns. Agarose has been the preferred media for separation of whole lipoproteins, providing a clear background and convenience<sup>18-21</sup>. Early electrophoretic methods were, in general, considered useful for qualitative analysis but less than desirable for lipoprotein quantitation because of poor precision and large systematic biases compared to other methods<sup>22</sup>. The Helena QuickGel electrophoresis system demonstrates that electrophoretic quantitation can be precise and accurate. Evaluations demonstrate good separation of the major lipoprotein classes with precise and accurate quantitation of HDL, LDL, and VLDL cholesterol and Lp(a)-C in comparisons with the reference method<sup>o</sup>

## PRINCIPLE

The SPIFE and QuickGel Chamber systems separate the major lipoprotein classes using agarose electrophoresis. The lipoprotein bands are stained with enzymic reagent and their cholesterol



The alpha band which migrates the farthest toward the anode corresponds to HDL. The next band, pre-beta, corresponds to VLDL, and the slowest moving beta band corresponds approximately to LDL. If a band appears between alpha and pre-beta, it should be quantitated as the Lp(a)-C band. This band may not be observed in every specimen. Chylomicrons, if present, remain at the origin. The amount of formazan dye produced is directly proportional to the amount of cholesterol and cholesterol esters originally present in the sample. The relative percent cholesterol in each fraction is obtained by scanning in a densitometer equipped with 570 nm filter or with the QuickScan 2000 Flat Bed Scanner.

## REAGENTS

### 1. QuickGel Cholesterol Gel

Ingredients: Each gel contains agarose in a sodium barbital buffer with EDTA, guanidine hydrochloride, bovine albumin and magnesium chloride. Sodium azide has been added as a preservative.

**WARNING: FOR IN-VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY.** The gel contains barbital which, in sufficient quantities, can be toxic. To prevent the formation of toxic vapors, this product should not be mixed with acidic solutions. When discarding this reagent always flush sink with copious quantities of water. This will prevent the formation of metallic azides which, when highly concentrated in metal plumbing, are potentially explosive. In addition to purging pipes with water, plumbing should occasionally be decontaminated with 10% NaOH.

Preparation for Use: The gels are ready for use as packaged.

Storage and Stability: The gels should be stored horizontally at room temperature (15 to 30°C), in the protective packaging, and are stable until the expiration date indicated on the package.

**DO NOT REFRIGERATE OR FREEZE THE GELS.**

Signs of Deterioration: Any of the following conditions may indicate deterioration of the gel: (1) crystalline appearance indicating the agarose has been frozen, (2) cracking and peeling

indicating drying of the agarose, (3) bacterial growth indicating contamination, (4) thinning of gel blocks.

## 2. SPIFE Cholesterol Reagent

Ingredients: When reconstituted as directed, the concentration of the reactive ingredients is as follows:

Cholesterol Esterase (Pseudomonassp.) 5.4 U/mL

CholesterolDehydrogenase (Nocardiasp.) 1.1 U/mL

Diaphorase (Clostridiumkluveri) 75.0 U/mL

NAD 35.3 mM

NBT 2.3 mM

Preparation for Use: Reconstitute each vial of SPIFE Cholesterol Reagent with 2.5 mL SPIFE Cholesterol Diluent. Swirl gently to dissolve. Do not shake. Be sure the reagent is completely dissolved before using. Storage and Stability: Cholesterol Reagent should be stored at 2 to 8°C and is stable until the expiration date indicated on the vial. The reconstituted reagent is stable for 6 hours at 2 to 8°C. Signs of Deterioration: The unreconstituted reagent should be uniformly pale or light yellow. The reconstituted reagent is a clear to light yellow solution.

## 3. SPIFE Cholesterol Diluent Ingredients: Cholesterol Diluent contains 100 mM HEPES Buffer

Preparation for Use: The diluent is ready for use as packaged. Storage and Stability: The diluent should be stored at 2 to 8°C and is stable until the expiration date indicated on the vial.

Signs of Deterioration: Discard the diluent if it shows signs of bacterial growth.

## 4. Citric Acid Destain Ingredients: After dissolution, the destain contains 0.3% (w/v) citric acid.

**WARNING: FOR IN-VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY. - IRRITANT-DO NOT INGEST.**

Preparation for Use: Pour 11 L of deionized water into the Destain vat. Add the entire package of Destain. Mix well until completely dissolved.

Storage and Stability: Store the Destain at 15 to 30°C. It is stable until the expiration date on the package.

Signs of Deterioration: Discard if solution becomes cloudy

## INSTRUMENTS

A SPIFE 2000/3000 or the QuickGel Chamber must be used to electrophorese the gel. The gel can be scanned on a densitometer such as the QuickScan 2000 (Cat. No. 1660). Refer to the appropriate Operator's Manual for detailed operating instructions.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING Specimen: Serum samples are the specimen of choice. Patient Preparation: The cholesterol content of the alpha (HDL) and beta (LDL) and

Lp(a)-C lipoproteins is not materially affected by recent meals.<sup>3</sup> Therefore, if the HDL cholesterol is the only parameter of interest, the patient need not be fasting.

Interfering Substances:

1. Heparin administered I.V. causes activation of lipoprotein lipase, which tends to increase the relative migration rate of the fractions, especially the Beta lipoprotein<sup>24</sup>.
2. For effects of various drugs, refer to Young et al<sup>25</sup>.

Specimen Storage: For best separation of the various lipoproteins, fresh serum should be used. If testing cannot be performed immediately, the sample should be stored at 2 to 8°C no longer than 4 days. The specimen should never be stored frozen. Freezing may irreversibly alter the lipoprotein separation<sup>26</sup>. No additives or preservatives are necessary.

PROCEDURE FOR SPIFE 2000/3000 Materials Provided: The following materials are provided in the QuickGel Cholesterol Kit for SPIFE (Cat. No. 3443). Individual items are not available.

QuickGel Cholesterol Gels (10)

SPIFE Cholesterol Reagent (10 x 2.5 mL)

SPIFE Cholesterol Diluent (1 x 25 mL)

Citric Acid Destain (1 pkg)

QuickGel Blotter C (10)

QuickGel Blotter X (20)

Applicator Blade Assembly - 20 Samples (10)

Materials provided by Helena but not contained in the kit:

Cat. No.

SPIFE 3000 1088

SPIFE 2000 1130

QuickScan 2000 1660

Cholesterol Profile Control 3218

REP Prep 3100

Gel Block Remover 1115

SPIFE Disposable Cups (Deep Well) 3360

QuickGelDispo Cup Tray 3353

SPIFE QuickGel Electrodes 1111

SPIFE QuickGel Gel Holder 3358

QuickGel Chamber Alignment Guide 86541003

SPIFE 3000/Rep 3 Reagent Spreaders 3706

SPIFE QuickGel Disposable Stainless Steel Electrodes 3357

SPIFE Reagent Spreaders 3386

#### STEP BY STEP METHOD

##### I. Chamber Preparation

1. The SPIFE QuickGel Chamber Alignment Guide must be used to mark the location for gel placement if the chamber floor has not been marked previously. It is recommended that the markings be placed directly on the copper floor under the contact sheet.

2. Remove the contact sheet & clean the chamber floor according to instructions in the Operator's Manual.

3. Place the round hole in the guide over the left chamber pin and the obround hole over the right pin.

4. Using an indelible marker, outline the rectangular open area onto the copper floor. Allow marking to dry, and apply another contact sheet.

##### II. Stainer Preparation

NOTE: If a SPIFE procedure requiring a stain has been run prior to running the cholesterol gels, the stainer unit must be cleaned/ washed before washing the cholesterol gel.

#### SPIFE 3000

The SPIFE has an automatic wash cycle prompted by initiation of a test which does not use the stainer unit for staining when the previous test did use the stainer for staining. To avoid delays after electrophoresis, this wash cycle should be initiated at least seven (7) minutes prior to the end of the run. To verify the status, press the TEST SELECT/CONTINUE button on the stainer until the appropriate test is selected. Place an empty Gel Holder in the stainer unit. If cleaning is required, the "Wash 1" prompt will appear, followed by "Plate out, Holder in" prompts. Press "Continue" to begin the stainer wash. The cleaning process will complete automatically in about 7 minutes. The unit is then ready to process the gel after electrophoresis.

#### SPIFE 2000

If utilizing the unit for both stained and non-stained gels, log usage to determine when cleaning is necessary. Create a program to clean the unit as a "User Test" according to the following:

User Test

- 1) No Prompt  
Wash 1 1:00 REC=ON VALVE=7
- 2) No Prompt  
Wash 2 1:00 REC=ON VALVE=7
- 3) No Prompt  
Wash 3 1:00 REC=ON VALVE=7
- 4) No Prompt  
Wash 4 1:00 REC=ON VALVE=7
- 5) No Prompt  
END OF TEST

III. Preparation of Reagent

1. Reconstitute the SPIFE Cholesterol Reagent with 2.5 mL SPIFE Cholesterol Diluent. Mix well by inversion.

IV. Sample Preparation

1. Remove one disposable Applicator Blade Assembly from the packaging. Remove the protective guards from the blade by gently bending the protective piece back and forth until it breaks free.

2. Place the Applicator Blade into the vertical slot numbered 6 in the Applicator Assembly.

Please note that the blade assembly will only fit into the slots one way; do not try to force the blade assembly into the slots.

3. Slide a strip of Disposable Cups into top row numbered 1 to 10 of the appropriate Cup Tray.

4. Pipette 75 to 80  $\mu$ L of patient serum or control into cups numbered 1 to 5 and 6 to 10. Cover the samples until ready to use.

V. Gel Preparation

1. Carefully cut open the end of the gel pouch. Remove one gel from the protective packaging. Fold and tape the open end of the pouch to prevent drying of the gel. Remove the gel from the plastic mold and discard the mold.

2. Using a QuickGel Blotter C, gently blot the entire gel using slight fingertip pressure on the blotter. Remove the blotter.
3. Dispense approximately 1 mL of REP Prep onto the left side of the rectangle on the electrophoresis chamber floor.
4. Place the edge of the gel next to the left edge of the marked rectangle. Gently lay the gel down on the REP Prep, starting from the left side and ending on the right side. Make sure no bubbles remain under the gel.
5. Use lint-free tissue to wipe around the edges of the plastic gel backing to remove excess REP Prep.
6. Thoroughly wash electrodes with deionized water before and after each use. Wipe the QuickGel Electrode with a lint-free tissue. The Stainless Steel Electrode must be patted dry because of the rough surface. Ensure that the endcaps are screwed on tightly. The Stainless Steel Electrode must be replaced after use on 50 gels. Unscrew the endcaps from the old electrode and screw them tightly onto the new electrode.
7. Place a QuickGel Electrode on the outside ledge of the left gel block (cathode end) inside the magnetic posts.
8. Place a QuickGel Stainless Steel Electrode on the outside ledge of the right gel block (anode end) of the gel inside the magnetic posts. Close the chamber lid.
9. Press the TEST SELECT/CONTINUE button located on the Electrophoresis and Stainer sides of the instrument until the appropriate test name appears on the display.

#### VI. Sample Application/Electrophoresis

Using the instructions provided in the Operator's Manual, set up the parameters as follows for the SPIFE 3000 or the SPIFE 2000.

##### A. SPIFE 3000

###### Electrophoresis Unit

- 1) No Prompt  
Load Sample 1      00:30   20°C   SPD6
- 2) No Prompt  
Apply Sample 1      1:00   20°C   SPD6   LOC1
- 3) To Continue, (continue)  
Electrophoresis 1    25:00   16°C   220 V   60 mA
- 4) Remove blotter, (continue)  
Apply Reagent 1                    30°C   8 cycles

- 5) No Prompt  
Incubate 1 15:00 30°C
- 6) No prompt  
END OF TEST

Stainer Unit

- 1) No Prompt  
Wash 1 5:00 REC = REV VALVE = 2
- 2) No Prompt  
Wash 2 5:00 REC = REV VALVE = 7
- 3) No Prompt  
Dry 1 15:00 70°C
- 4) No Prompt  
END OF TEST

1. Place the Cup Tray with samples on the SPIFE 3000. Align the holes in the tray with the pins on the instrument.
  2. Place a reconstituted vial of reagent in the center hole of the reagent bar, ensuring that the vial is pushed down as far as it can go. Close the chamber lid.
  3. With QG-CHOLESTEROL on the display, press the START/STOP button. An option to either begin the test or skip the operation will be presented. Press START/STOP to begin. The SPIFE 3000 will apply the samples and beep.
  4. Remove the two QuickGel Blotter X's from the package. Slide the blotters under the ends of the carbon electrodes, directly above and below the cathode end of the gel, so that they touch the gel block ends.
  5. Close the chamber lid and press CONTINUE. The SPIFE will electrophorese and beep when completed.
  6. Open the chamber lid, remove electrodes and dispose of Blotter X's. Dispose of blades as biohazardous waste. Using a Gel Block Remover, completely remove and discard the gel blocks on each end of the gel.
  7. Wipe the excess buffer and moisture from around the gel and chamber floor using a lint-free tissue.
  8. Place a SPIFE 3000 Reagent Spreader (glass rod) inside the magnetic posts at each end of the chamber.

9. Close the chamber lid and press the TEST SELECT/CONTINUE button to pour, spread reagent and start the incubation timer.

10. At the end of the incubation, remove the glass rods and the gel from the chamber. Proceed to Step V.

B. SPIFE 2000

Electrophoresis Unit

- 1) No Prompt  
Load Sample 1      00:30 20°    SPD.=6
- 2) No Prompt  
Apply Sample 1      1:00 20°C   SPD.=6
- 3) To Continue, (continue)  
Electrophoresis 1    25:00 16°C   220 VOLTS
- 4) Apply/Spread Reagent, (continue)  
Incubate 1      15:00 30°C
- 5) No prompt  
END OF TEST

Stainer Unit

- 1) No Prompt  
Wash 5:00    CIR = ON    VALVE = 2
- 2) No Prompt  
Wash 2      5:00    CIR = ON    VALVE = 7
- 3) No Prompt  
Dry 1    20:00 70°C
- 4) No Prompt  
END OF TEST

1. Place the Cup Tray with samples on the SPIFE 2000. Align the holes in the tray with the pins on the instrument. Close the chamber lid.

2. With CHOLESTEROL on the display, press the START/STOP button. An option to either begin the test or skip the operation will be presented. Press START/STOP to begin. The SPIFE 2000 will apply the samples, and beep when completed. Dispose of blades as biohazardous waste.

3. Remove the two QuickGel Blotter X's from the package. Slide the blotters under the ends of the carbon electrodes, directly above and below the cathode end of the gel, so that they touch the gel block ends.

4. Close the chamber lid and press CONTINUE. The SPIFE will electrophorese and beep when completed.

5. Open the chamber lid, remove electrodes and dispose of Blotter X's. Using a Gel Block Remover, completely remove and discard the gel blocks on each end of the gel.

6. Wipe the excess buffer and moisture from around the gel and chamber floor using a lint-free tissue.

7. Pour the contents of the SPIFE Cholesterol Reagent vial across the cathode end of the gel. Use the Reagent Spreader to work the reagent into the gel. Set the ends of the Reagent Spreader on the inner ledge of the electrophoresis chamber with the rod laying on the gel.

8. Slowly slide the spreader across the gel. Tilt the spreader toward the gel block area so the reagent relocates along the rod.

9. Repeat this until the reagent has been spread eight times in each direction. On the last spread across the gel, continue to drag the rod off the end of the gel to dispose of excess reagent.

10. Close the chamber lid. Press the TEST SELECT/CONTINUE button to start the incubation timer.

11. After incubation, carefully remove the gel from the electrophoresis chamber.

#### V. Washing

1. Remove the SPIFE QuickGel Holder from the stainer chamber. While holding the gel agarose side down, slide one side of the gel backing under one of the metal bars. Bend the gel backing so that the gel is bowed, and slip the other side under the other metal bar. The two small notches in the backing must fit over the small pins to secure the gel to the holder.

2. Place the SPIFE QuickGel Holder with the attached gel facing backwards into the stainer chamber.

3. With the appropriate test name on the display, press the START/STOP button. An option to either begin the test or skip the operation will be presented. Press START/STOP to begin. The instrument will wash and dry the gel.

4. When the gel has completed the process, the instrument will beep. Remove the Gel Holder from the stainer and you can scan the bands.

#### PROCEDURE FOR QuickGel® CHAMBER

The following instructions are for using the QuickGel Chamber (Cat. No. 1284) for electrophoresis.

Materials Provided: The following materials needed for the procedure are contained in the QuickGel Cholesterol Kit (Cat. No. 3543T). Individual items are not available.

- QuickGel Cholesterol Gels (10)
- SPIFE Cholesterol Reagent (10 x 2.5 mL)
- SPIFE Cholesterol Diluent (1 x 25 mL)
- QuickGel Blotter C (10)
- Citric Acid Destain (1 pkg)
- QuickGel Templates (10)
- QuickGel Blotter A (10)
- QuickGel Blotter X (20)

Materials provided but not contained in the kit:

Item	Cat. No.
QuickScan 2000	1660
QuickGel Chamber	1284
Titan Blotter Pads	5037
Staining Dish	4061
Incubation Chamber	4062
REP Prep	3100
QuickGel Gel Block Remover	1262
Cholesterol Profile Control	3218

Materials needed but not provided:

- 5 mL serological pipette
- Power Supply capable of providing at least 220 Volts.
- Incubator capable of maintaining 30°C

#### STEP BY STEP METHOD

- I. Chamber Preparation

1. The QuickGel Chamber must be plugged into a power supply. Set a timer for \*23:00 minutes and the power at 220 Volts. \*An electrophoresis time of 22:30 to 23:30 minutes is acceptable.

2. Snap the Electrophoresis Lid into place on the chamber.

3. Ensure that the chamber floor is cool (room temperature) before starting the test.

## II. Preparation of the Incubation Chamber

1. Place a Titan Blotter Pad in the bottom of the incubation chamber.

2. Wet the blotter completely with water and then pour off excess.

3. Close the chamber and place it in a laboratory incubator at 30°C.

4. Allow the blotter to equilibrate to 30°C while performing the electrophoresis steps.

## III. Preparation of Reagent

1. Reconstitute the SPIFE Cholesterol Reagent with 2.5 mL SPIFE Cholesterol Diluent. Mix well by inversion.

## IV. Sample Template Application

1. Carefully cut open one end of the gel pouch. Remove one gel from the protective packaging. Fold and tape the open end of the pouch to prevent drying of the remaining gel. Remove the gel to be used from the plastic mold and discard the mold.

2. Dispense approximately 1 mL of REP Prep onto the left side of the electrophoresis chamber.

3. Place the left notch of the gel so that it fits the left pin of the chamber floor and gently roll the gel to the right side fitting the right notch to the right pin of the chamber floor. Use a lint free tissue to wipe around the edges of the gel backing to remove any excess REP Prep. Make sure that no bubbles remain under the gel.

4. Using a QuickGel Blotter C, gently blot the entire gel using slight fingertip pressure on the blotter. Remove the blotter.

5. Remove one QuickGel Template from the package. Hold the template so that the small hole in the corner is toward the front right side of the chamber.

6. Carefully place the template on the gel aligning the template slits with the marks on each side of the gel backing. The center hole in the template should align with the indentation in the center of the gel.

7. Apply slight fingertip pressure to the template making sure there are no bubbles under it. NOTE: If wearing rubber gloves to perform this step, place a QuickGel Blotter A over the template and then apply fingertip pressure to the template. Remove the blotter. Powder from the gloves can produce gel artifacts.

8. Apply 3  $\mu\text{L}$  of the appropriate sample to the template slits. After the last sample application, wait 5 minutes to allow time for the proper absorption.

9. Use the QuickGel Blotter A to gently blot the excess sample from the template. Carefully remove the template.

10. Place two Blotter X's horizontally along the top and bottom sides of the gel backing. They should be positioned along the edges (not touching the gel) so that, when the lid closes, the Blotter X's do not interfere with the electrodes.

11. Close the lid, press the power switch to turn on the chamber and start the power supply.

#### V. Electrophoresis and Incubation

1. Electrophorese the gel for \*23:00 minutes at 220 Volts.

2. Turn off the power supply and the QuickGel Chamber.

3. Open the lid and remove the blotters.

4. Using the QuickGel Gel Block Remover, remove the two gel blocks from the gel. Again, use a lint free tissue to wipe around the edges of the gel backing to remove any excess moisture.

5. Remove the gel from the chamber and place it, agarose side up, on a clean nonporous surface with the cathode edge (top of gel) away from you.

6. Pour the contents of the vial of reagent along the cathode edge of the gel.

7. Lay a 5 mL serological pipette lengthwise along the cathode edge of the gel. Gently spread the reagent by slowly pulling the pipette across the agarose to the anode edge, being careful not to roll the reagent off the gel. Wait for 15 seconds. Then pull the pipette across the gel from anode to the cathode edge in the same manner. Wait 15 seconds. Then pull the pipette across the gel from cathode to anode and roll the excess off the gel.

8. Place the gel into the preheated (30°C) Incubation Chamber.

9. Place the Incubation Chamber in a laboratory incubator at 30°C for 15 minutes.

10. Two containers are needed: one for the Destain solution and one for the deionized water wash. The size of the container should be able to accommodate a gel laid flat. Pour a sufficient amount of Destain into one container to cover the gel. Pour the same amount of deionized water into the other container.

11. At the end of incubation, remove the gel from the incubator. Place the gel in the destain solution using a gentle alternately rocking and swirling technique. Allow the gel to remain in the destain solution for 5 minutes. Remove the gel and tap it to remove excess destain.

12. Place the gel in the container of deionized water for 5 minutes. Use the same technique as in Step 11. Tap the gel to remove the excess water.

13. Ensure the chamber floor is clean, and place the Drying Lid on the chamber. Replace the gel onto the chamber floor. Close the Drying Lid and turn on the chamber. Dry the gel for 20 minutes or until dry. Remove the gel when drying is completed, and turn off the chamber.

#### Evaluation of Fractions

For quantitation of the lipoprotein cholesterol fractions scan the gel, agarose side up, in the Quick Scan 2000.

Stability of End Product: For best results, scan the QuickGel Cholesterol Gel within 5 minutes.

Calibration: A calibration curve is not necessary as relative density of the fractions is the only parameter determined.

Quality Control: Quantitation of HDL Cholesterol values should be monitored using the Cholesterol Profile Control (Cat. No. 3218). This control verifies all phases of the procedure and should be used on each gel run. Refer to the package insert provided with the control for detailed information and assay values.

#### REFERENCE VALUES

Lipoprotein cholesterol values vary according to age and sex<sup>26</sup>, and wide variations among different geographical locations and races have been reported<sup>6</sup>. Therefore, it is essential that each laboratory establish its own expected range for its particular population.

A total of 54 patients with normal total cholesterol (total cholesterol  $\leq$  200 mg/dL) were tested using the QuickGel Cholesterol system. These patients have not been differentiated by age, race or sex. These values should only serve as guidelines.

	Range ( $\bar{x} \pm 2$ SD)
HDL (%)	11.8 - 45.0
Lp(a)-C%	0.0 - 12.2
VLDL (%)	0.0 - 20.3

LDL (%)      47.6 - 77.5

Each laboratory should establish its own range for age, sex and race.

## RESULTS

The QuickGel Cholesterol system separates the major lipoprotein classes. The alpha band which migrates the farthest toward the anode corresponds to HDL. The next band, pre-beta, corresponds to VLDL. If a band appears between alpha and pre-beta, it is the Lp(a)-C band and should be added to the LDL quantitation when reporting the total LDL value.<sup>27</sup> It does not appear in every sample at measurable concentrations. The slowest moving beta band corresponds approximately to LDL. Chylomicrons, if present, remain at the origin.

### Calculations

Helena densitometers will automatically calculate and print the relative percent and the absolute values for each band when the specimen total cholesterol is entered. Refer to the Operator's Manual provided with the instrument.

Figure 1: A scan of a QuickGel Cholesterol pattern.

## LIMITATIONS

This method is intended for the separation and quantitation of lipoprotein classes. Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING section of this procedure for interfering factors.

The system is linear to 400 mg/dL total cholesterol, with sensitivity to 2.5 mg/dL per band. Patient sample quantitations which exceed the linearity of the system should be diluted with deionized water and retested.

Lp(a)-C below the threshold level of 2.5 mg/dL may not be seen using this method, even if Lp(a)-C is present in the sample. To quantitate patients who have an Lp(a)-C below 2.5 mg/dL, it is recommended that an alternative method be used.

## INTERPRETATION OF RESULTS

Treatment decisions in the NCEP guidelines are based primarily on LDL cholesterol levels<sup>10</sup>. The risk factors considered in the classification scheme are age (males equal to or older than 45 years and females equal to or older than 55), family history of premature CHD, smoking, hypertension, and diabetes. Treatment is appropriate when LDL cholesterol is at or above the following cut points: all patients at or above 160 mg/dL, with two or more risk factors a value above 130 mg/dL and with symptoms of CHD a value above 100 mg/dL.

HDL cholesterol is considered high risk at or below 35 mg/dL and

counted as one of the risk factors in the classification scheme. An HDL cholesterol value above 60 mg/dL is considered protective and subtracts one from the total number of risk factors.

#### Treatment Decision Cut-Points<sup>10</sup>

##### Total Cholesterol

Desirable Blood Cholesterol < 200 mg/dL

Borderline-High Blood Cholesterol 200-239 mg/dL

High Blood Cholesterol ≥ 240 mg/dL

##### HDL-Cholesterol

Low HDL Cholesterol < 40 mg/dL

Protective HDL-Cholesterol ≥ 60 mg/dL

##### Triglycerides

Desirable < 150 mg/dL

Borderline 150-199 mg/dL

Elevated 200-499 mg/dL

Very Elevated ≥ 500 mg/dL

##### LDL-Cholesterol

###### Dietary Therapy

Initiation Level LDL Goal

Without CHD and fewer

than 2 risk factors ≥ 160 mg/dL < 160mg/dL

Without CHD and with

2 or more risk factors ≥ 130 mg/dL < 130mg/dL

With CHD > 100 mg/dL ≤ 100mg/dL

###### LDL-Cholesterol

###### Drug Treatment

Initiation Level LDL Goal

Without CHD and fewer

than 2 risk factors ≥ 190 mg/dL < 160 mg/dL

Without CHD and with

2 or more risk factors  $\geq 160$  mg/dL < 130 mg/dL

With CHD  $\geq 130$  mg/dL < 100 mg/dL

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### PRECISION

Precision studies were done using a control and a normal patient specimen on both the SPIFE and the QuickGel Chamber methods.

#### SPIFE

Within Run – A single patient sample and a control were run in replicate on one gel. N = 5

##### Control

	HDL %Lp(a)-C		VLDL %	LDL %
Mean	22.8	2.3	11.3	63.6
SD	0.8	0.1	0.5	0.6
CV	3.5%	3.7%	4.5%	0.9%

Patient	HDL %Lp(a)-C		LDL %
Mean	27.2	7.7	65.0
SD	0.6	0.2	0.4
CV	2.2%	3.1%	0.7%

Between Run - A patient sample and a control were run in replicate on 9 gels. N = 45

##### Control

	HDL %Lp(a)-C		VLDL %	LDL %
Mean	22.9	2.4	11.6	63.2
SD	0.8	0.2	1.0	1.4
CV	3.6%	7.3%	8.7%	2.3%

Patient	HDL %Lp(a)-C		LDL %
Mean	27.3	7.5	65.2
SD	0.8	0.4	0.7
CV	2.9%	5.7%	1.1%

#### QuickGel Chamber

Within Run - A single patient sample and a control were run in replicate on one gel. N = 5

##### Control

	HDL %Lp(a)-C		VLDL %	LDL %
Mean	23.9	2.4	10.5	63.3

SD	0.7	0.2	0.3	0.7
CV	3.1%	6.4%	3.1%	1.1%

Patient	HDL %	Lp(a)-C		LDL %
Mean	29.5	6.9		63.6
SD	0.8	0.1		0.8
CV	2.7%	0.8%		1.3%

Between Run - A patient sample and a control were run in replicate each on 9 gels. N = 45

Control

	HDL %	Lp(a)-C	VLDL %	LDL %
Mean	23.4	2.4	10.5	63.7
SD	0.9	0.2	0.3	1.0
CV	3.8%	9.4%	3.2%	1.6%

Patient	HDL %	Lp(a)-C		LDL %
Mean	29.4	6.8		63.8
SD	1.5	0.5		1.5
CV	5.3%	6.8%		2.3%

#### LINEARITY AND SENSITIVITY

Serial dilutions of an elevated cholesterol sample were made and tested by this system. The linearity study showed that the system is linear to 400 mg/dL total cholesterol and that the system is sensitive to 2.5 mg/dL per band.

#### CORRELATION STUDIES

A total of 81 patient samples, were run using SPIFE Vis Cholesterol as the reference method.

The following is the correlation data produced. N = 81

SPIFE QuickGel Chamber

R = 0.998      R = 0.998

Y = 1.024X - 0.753      Y = 1.010X - 0.322

X = SPIFE Vis Cholesterol      X = SPIFE Vis Cholesterol

Y = QuickGel Cholesterol on SPIFE      Y = QuickGel Cholesterol on QuickGel Chamber