|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | 2025-1S |
| **ASIGNATURA** | BIOQUIMICA CLÍNICA | **SEMESTRE:** | TERCERO | **PARALELO:** | A |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ROSA ELISA CRUZ TENEMPAGUAY** |
| **FECHA** |  Martes 06 de mayo de 2025 |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | 5 | **HORA:** | 07h0010h00 | **DURACIÓN:** | 3h |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
|  |  |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | Laboratorio E201  |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | Diagnóstico de laboratorio en trastornos del metabolismo de Lípidos |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Dosificación de triglicéridos |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** |
| Relaciona los trastornos del metabolismo de lípidos, a través de la ejecución de procedimientos, métodos y técnicas bioquímicas manuales y automatizadas, para efectuar un adecuado diagnóstico de laboratorio. |
| **OBJETIVO GENERAL** | Cuantificar concentraciones triglicéridos en suero sanguíneo de sujetos con metabolismo normal de lípidos  |
| **Objetivos específicos** | * Consultar y registrar si el paciente se encuentra adecuadamente preparado para realizarse estos análisis bioquímicos (fase preanalítica).
* Describir los métodos de análisis utilizados en las determinaciones.
* Identificar los valores de referencia y clasificación para triglicéridos.
* Calcular las concentraciones de triglicéridos en la muestra de suero objeto de análisis.
* Interpretar los resultados obtenidos y correlacionarlos con su importancia biomédica.
 |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** |
| **LIPIDOS**Los lípidos desempeñan diferentes tipos de funciones biológicas (1):* **Función de reserva energética***.* Los triglicéridos son la principal reserva de energía de los animales ya que un gramo de grasa produce 9,4 kilocalorías en las reacciones metabólicas de oxidación, mientras que las proteínas y los glúcidos sólo producen 4,1 kilocalorías por gramo.
* **Función estructural**. Los fosfolípidos, los glucolípidos y el colesterol forman las bicapas lipídicas de las membranas celulares. Los triglicéridos del tejido adiposo recubren y proporcionan consistencia a los órganos y protegen mecánicamente estructuras o son aislantes térmicos.
* **Función reguladora, hormonal o de comunicación celular**. Las vitaminas liposolubles son de naturaleza lipídica (terpenos, esteroides); las hormonas esteroides regulan el metabolismo y las funciones de reproducción; los glucolípidos actúan como receptores de membrana; los eicosanoides poseen un papel destacado en la comunicación celular, inflamación, respuesta inmune, etc.
* **Función transportadora**. El transporte de lípidos desde el intestino hasta su lugar de destino se realiza mediante su emulsión gracias a los ácidos biliares y a las lipoproteínas.
* **Función Biocatalizadora**. En este papel los lípidos favorecen o facilitan las reacciones químicas que se producen en los seres vivos. Cumplen esta función las vitaminas lipídicas, las hormonas esteroideas y las prostaglandinas.

**TRIGLICÉRIDOS****MÉTODO DE ANALISIS: ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO, PUNTO FINAL**El método está basado en la hidrólisis enzimática de los Triglicéridos séricos a Glicerol y Ácidos Grasos Libres (FFA) por acción de la Lipoprotein Lipasa (LPL). El Glicerol es fosforilado por el Adenosin Trifosfato (ATP) en presencia de Glicerolquinasa (GK) para formar Glicerol-3-Fosfato (G-3-P) y Adenosin Difosfato (ADP). El G-3-P es oxidado por la Glicerofosfato Oxidasa (GPO) en dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y Peróxido de Hidrógeno (2). En presencia de peroxidasa (POD) el Fenol y la 4-AminoAntipirina (4-AA) se condensan por acción del Peróxido de Hidrógeno (H2O2) formándose un Cromógeno (Quinonaimina) rojo proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra (2).Valores clínicos de triglicéridos empleados para clasificar grupos de riesgo:

|  |  |
| --- | --- |
| Triglicéridos  | Clasificación |
| < 150mg/dL (<1,7mmol/L) | Normal |
| 150-199mg/dL (1,7-2.25mmol/L) | Medio/Alto |
| 200-499mg/dL (2.26-5,63mmol/L) | Alto  |
| ≥ 500mg/dL (≥5,65mmol/L) | Muy Alto |

Valores clínicos de colesterol total empleados para clasificar grupos de riesgo:**INTERFERENCIAS*** Lipemia (>2 g/L) puede afectar los resultados.
* Bilirrubina (20 mg/dL) no interfiere.
* Hemoglobina puede afectar los resultados

**SIGNIFICADO CLINICO**El conocimiento del nivel plasmático de lípidos (triglicéridos y colesterol) y derivados lipídicos, especialmente lipoproteínas (HDL y LDL), ayudan en el diagnóstico de muchos desórdenes metabólicos o condiciones con alto riesgo. Un desequilibrio en el nivel de lipoproteínas plasmáticas conduce a una hiperlipoproteinemia, un grupo de trastornos que afectan a lípidos y lipoproteínas causantes de la enfermedad cardíaca coronaria y de la arterioesclerosis.Cada tipo de hiperlipoproteinemia está asociada con una elevación anormal de triglicéridos, colesterol o de subfracciones lipoproteicas. Estudios en cursoindican que la tasa de triglicéridos por sí misma es también un factor de riesgo independiente de la enfermedad cardíaca coronaria. El hallazgo que unos triglicéridos elevados sean un factor de riesgo independiente sugiere que algunas lipoproteínas ricas en triglicéridos son aterogénicas. |

|  |
| --- |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** |
| **Equipos** | **Materiales** | **Reactivos** |
| * Fotómetro o colorímetro para mediciones a 500 ± 20 nm, con unidad termostatizada ajustable a 37ºC
* Centrifuga
* Estufa
 | * Micropipetas automáticas 10-100µL, 100-1000µL
* Porta micropipetas
* Temporizador
* Gradilla
* Tubos de ensayo de limpios grandes y pequeños y secos
* Puntas amarillas y azules
* Una hoja de papel periódico
* Suero sanguíneo
 | * Kit – Triglicéridos
* Mono reactivo. Tampón PIPES (piperazina-N, N'-bis-(2-etanosulfónico)) pH 6,8; LPL, GK, GPO, ATP, POD, 4-AA, Fenol, tensioactivos no-iónicos, Biocidas.
* Estándar o Patrón: 200 mg/dL de glicerol trioleato.
 |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** |
| * Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente
* Pipetear en los tubos rotulados:
* Para triglicéridos y colesterol total seguir el siguiente esquema:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **TUBOS** | **BLANCO** | **PATRON (STANDARD)** | **MUESTRA (Suero)** |
| Reactivo  | 1mL | 1mL | 1mL |
| Standard  | - | 10µL | - |
| Muestra (Suero) | - | - | 10µL |

* Mezclar y reposar los tubos 10 minutos a temperatura ambiente ó cinco minutos a 37ºC. (Si trabaja ***triglicéridos a temperatura ambiente*** dejar reposar por 15 minutos).
* Leer la absorbancia (A) del patrón (standard) y de la muestra frente al blanco del reactivo. El color es estable: triglicéridos (1 hora) y colesterol total (30 minutos) protegidos de la luz.
* Calcular la concentración de triglicéridos y colesterol total en mg/dL, Para expresar los resultados en unidades SI aplicar: triglicéridos mg/dL\*0,0113=mmol/L
* Muestras con concentraciones superiores a 800mg/dL en triglicéridos deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.
* Límite de detección=0.74mg/dL en triglicéridos.
* Linealidad= Hasta 800mg/dL en triglicéridos.

**CALCULOS:** $$Concentración trigliceridos mg/dL =\frac{A muestra}{A Standard}xC Standard$$**ó con:**$$Factor =\frac{C Standard}{A Standard}$$$$Concentración trigliceridos\frac{mg}{dL}=A muestra x Factor $$ |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** |
| (Se refiere a lo ejecutado en la práctica) |
| **OBSERVACIONES** |
|  |
| **CONCLUSIONES** |
|  |
| **RECOMENDACIONES** |
|  |
| **BIBLIOGRAFÍA** |
| 1. Henry J. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Madrid, Marbán. 2005
2. Linear Chemicals. Triglicéridos, Enzimático colorimétrico de punto final. 2019 [citado 19 octubre 2024]. Disponible en: <https://www.linear.es/wp-content/uploads/2018/03/1155005I-Rev.-02.pdf>
 |
|  |  |  |
| **Mgs. Ximena Robalino** | **Mgs. Rosa Elisa Cruz** | **Mgs. Franklin Ramos** |
| **DIRECTORA DE CARRERA** | **DOCENTE** | **RESPONSABLE DEL LABORATORIO** |