

MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL FENOTIPO Y GENOTIPO DE LA APOPROTEÍNA E EN LA DISBETALIPOPROTEINEMIA

Autores: *C. Mayoral, J. A. Villaverde, A. Castellví, R. Bonet, O. Jorba, F. Blanco, J. Ordoñez*
Sección de Lípidos. Servicio de Bioquímica, Hospital de Sant Pau. Barcelona

Introducción:

La dislipemia tipo III (disbetalipoproteinemia familiar), es un trastorno lipídico asociado a enfermedad coronaria prematura. Habitualmente se sospecha de su existencia cuando el cociente colesterol VLDL (c-VLDL)/ triglicérido VLDL (Tg) es $\geq 0,60$ si se expresan ambas magnitudes en mmol/l ($\geq 0,30$ si son expresadas en mg/dl).

Estos pacientes acumulan partículas IDL (VLDL remanente) que contienen Apoproteína E (ApoE). Esta, presenta básicamente 3 isoformas: E2, E3, E4, definidas genéticamente por alelos codominantes. Se heredan dos de los posibles alelos, uno de cada progenitor dando lugar a los diferentes genotipos, homocigotos y heterocigotos, de la ApoE. Para la expresión de la disbetalipoproteinemia, parece condición necesaria aunque no suficiente la presencia de la forma homocigota de la isoforma E2 de la ApoE.

Objetivo:

Comparar la especificidad de la determinación de las isoformas de ApoE por isoelectrofoque (fenotipo) de las VLDL, frente a la determinación de su genotipo mediante análisis de DNA, y relacionar las isoformas de ApoE con la disbetalipoproteinemia.

Material y métodos:

Se escogieron un total de 25 pacientes procedentes de nuestra sección de lípidos que presentaban un cociente c-VLDL/Tg $\geq 0,60$.

Determinación del fenotipo:

- * Obtención de las VLDL mediante ultracentrifugación en gradiente sin ajuste de densidad
- * Deslipidización de las mismas con alcohol-acetona, y éter etílico
- * Determinación del fenotipo de las isoformas de ApoE mediante isoelectrofoque

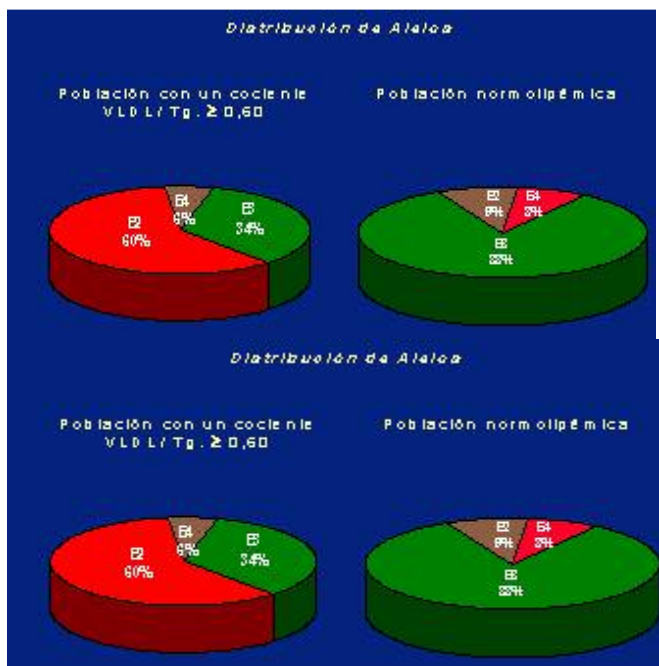
Determinación del genotipo:

A partir de los leucocitos obtenidos de sangre total:

- * Extracción de DNA

- * Amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction)
- * Digestión con un enzima de restricción (Cfo I)
- * Separación electroforetica de los fragmentos de DNA en gel de agarosa al 5%
- * Tinción del gel con bromuro de etidio (Br-Et) que se fija entre las bases de DNA
- * Visualización de los diferentes fragmentos mediante iluminación ultravioleta

Resultados:



Conclusiones:

El fenotipo y genotipo produjeron el mismo resultado, siendo más precisa la determinación genética, y con tendencia a una pronta automatización.

A pesar de tener una clara sospecha bioquímica, y en algunos casos antecedentes hereditarios, solo un 36% de los pacientes tienen el factor predisponente **E2/E2**.

La frecuencia de los alelos **E2** fue del 60%, mientras que en una población normolipémica, esta frecuencia es del 9%.

El genotipo **E2/E2** no es el único que determina la disbetalipoproteinemia