



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Farmacia -Programa de Magíster en Bioquímica Clínica e
Inmunología

**Producción de anticuerpos policlonales contra LOX-1 y
estandarización de un inmunoensayo
quimioluminiscente para determinación de LOX-1
soluble (sLOX-1) en pacientes con enfermedad
coronaria y su correlación con marcadores de riesgo
cardiovascular.**

ARTURO ALEJANDRO OSORIO ARIAS
CONCEPCIÓN-CHILE
2012

Profesor Guía: Liliana Lamperti Fernández
Paula Bustos Araya
Dpto. de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

RESUMEN

En pacientes diabéticos la Enfermedad Coronaria (EC) es habitualmente diagnosticada en un estado avanzado de enfermedad, confiriéndole este hecho un peor pronóstico. El retraso en el diagnóstico es debido a la presencia de isquemia miocárdica silente. Por esta misma razón, el tiempo desde el inicio de isquemia a la aparición de angina en el test de esfuerzo también se encuentra prolongado en el paciente diabético, comparado con pacientes no diabéticos. Actualmente no se dispone de un método de screening adecuado para detectar EC de manera precoz, en pacientes diabéticos clínicamente asintomáticos, que permita implementar medidas preventivas agresivas, evitando el desenlace fatal de esta patología.

El receptor LOX-1 para la lipoproteína de baja densidad modificada por oxidación (LDLox), corresponde a un receptor de la familia de receptores scavenger para LDLox similar a lectina que se expresa en la membrana de células endoteliales, mostrando una mayor expresión en estados patológicos como Diabetes, Hipertensión y Dislipidemia. Se ha observado que LOX-1 soluble (sLOX-1) se relaciona con una mayor expresión del LOX-1 unido a membrana y podría comportarse por lo tanto, como un marcador sérico de riesgo cardiovascular.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de esta tesis fue determinar y correlacionar los niveles séricos de LOX-1 soluble con biomarcadores de riesgo cardiovascular en pacientes diabéticos tipo 2 con estudio angiográfico de EC. Para esto se asignará un score del grado de severidad de la enfermedad coronaria establecida por estudios angiográficos, se medirán los niveles de LOX-1 soluble mediante un nuevo inmunensayo tipo ELISA para pacientes diabéticos tipo 2 con Enfermedad Coronaria. Estas variables fueron correlacionadas entre sí y con los factores clásicos de riesgo cardiovascular.

Para realizar nuestros objetivos elaboramos una herramienta inmunológica con anticuerpos policlonales dirigidos contra un péptido de 20 aminoácidos correspondiente a la porción C-terminal del receptor LOX-1. Con él, se estandarizó un ensayo de ELISA sandwich para la cuantificación de sLOX-1 con estos anticuerpos.

El anticuerpo anti LOX-1 producido permitió, mediante un ensayo quimioluminiscente, detectar y cuantificar las formas diméricas y monoméricas del sLOX-1 con un límite de detección de 9,77ng/mL. Con relación a los pacientes diabéticos, se observó una correlación positiva, pero no significativa entre el Score de Gensini y las concentraciones de sLOX-1. La PCRus y el sLOX-1 mostraron también una corelación positiva, pero no significativa ($R^2 = 0,0460$), sin embargo, el valor promedio de sLOX-1 fue de 42,38 ng/mL para el rango de bajo riesgo, 48,08 ng/mL para el rango de riesgo intermedio, y 47,35 ng/mL para el rango de riesgo elevado ($p = 0,3816$, ANOVA). Finalmente se observó, una correlación positiva, pero no significativa, entre los valores de ROS y sLOX-1 ($R^2 = 0,0544$). Estos resultados sugieren la necesidad de extender los estudios clínicos de sLOX-1 con el objeto de validar nuestro inmunoensayo y establecer la significancia estadística de las tendencias observadas, además de analizar y comprender la importancia fisiopatológica del sLOX-1 como un promisorio biomarcador cardiovascular.