



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Farmacia – Programa de Magíster en Ciencias Farmacéuticas

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE FOSFOLÍPIDOS
EN LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD (LDL),
POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIENCIA ACOPLADA A DETECTOR
EVAPORATIVO DE DIFUSIÓN DE LA LUZ
(HPLC-ELSD).**

PEDRO FRANCISCO NOVOA GÜNDEL

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Farmacéuticas

Profesor Guía: Dr. Ricardo Godoy Ramos

2013

Resumen

Una de las patologías con mayor frecuencia de aparición en la sociedad chilena es la aterosclerosis, que presenta una relación directa con las diferentes dislipidemias, en particular, la elevación del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL), la disminución del colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la presencia de ciertos factores de riesgo (tabaco, obesidad y sedentarismo). Esta condición puede derivar en enfermedades agudas como, infarto al miocardio y accidente cerebrovascular, que se encuentran dentro de las principales causas de muertes en nuestro país. El proceso inflamatorio se inicia cuando las lipoproteínas de baja densidad (LDL) traspasan el endotelio vascular. Estas partículas se encargan del transporte de los lípidos en sangre y poseen una superficie hidrofílica formada por proteínas, fosfolípidos y colesterol y un núcleo lipofílico conformado por triglicéridos y ésteres de colesterol. Al ingresar al espacio íntimo son oxidadas ($oxLDL$) y posteriormente fagocitadas por los macrófagos formando las células de espuma, y subsecuentemente, el ateroma. Importante en este proceso resulta lisofosfatidilcolina (LPC), un fosfolípido que se forma por acción de fosfolipasas en la superficie de las $oxLDL$.

La separación y análisis de fosfolípidos resulta compleja en virtud de la naturaleza de estas sustancias. No obstante, numerosos métodos por cromatografía líquida (HPLC) han sido desarrollados utilizando detectores universales, como el detector evaporativo de difusión de la luz (ELSD). En este contexto, se desarrollaron dos métodos por HPLC-ELSD para la determinación de fosfolípidos extraídos desde $nLDL$ (nativas) y $oxLDL$, el primero por cromatografía líquida de interacción hidrofílica (HILIC) y el segundo por cromatografía líquida en fase normal (NP-HPLC).

Se obtuvieron los modelos de respuesta para ambos métodos, uno lineal cuyo coeficiente de determinación (R^2) fluctuó entre 0,976 y 0,997, y uno de potencia cuyo R^2 fluctuó entre 0,983 y 0,998 para todos los fosfolípidos analizados. Los límites de detección y cuantificación para ambos métodos se encuentran entre

0,56 y 62,78 ng. Se determinó el contenido de fosfolípidos de n LDL y ox LDL utilizando ambos métodos, encontrándose, fosfatidilcolina (PC), esfingomielina (SM) y LPC en concentraciones de 19,85 a 64,36 $\mu\text{g/mL}$ para todas las muestras analizadas. No existe una diferencia significativa en el perfil de fosfolípidos entre las muestras de n LDL y ox LDL.

Se logró el desarrollo y validación de dos métodos analíticos para la determinación satisfactoria de fosfolípidos extraídos desde lipoproteínas plasmáticas.

