

PROFILING DELLE LIPOPROTEINE DEL SIERO ED ANALISI DELLA LORO COMPONENTE LIPIDICA MEDIANTE F4-MALS-FIA UV/Vis

A. Zattoni,¹ D. C. Rambaldi,¹ S. Casolari,¹ P. Reschiglian,¹ C. Johann²

¹Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, via Selmi2, Bologna
andrea.zattoni@unibo.it.

²Wyatt Technology Europe GmbH, 56307 Dernbach, Germany.

Il monitoraggio delle lipoproteine (LP) del siero riveste una notevole importanza diagnostica in quanto è noto che anomalie dei livelli lipidici e lipoproteici sono strettamente correlate all'insorgere di malattie cardiovascolari (*Coronary Artery Diseases*, CAD). Nelle analisi cliniche di routine, la valutazione del rischio CAD è comunemente eseguita mediante il dosaggio del colesterolo totale (TC), dei trigliceridi (TG), e del colesterolo trasportato dalle classi di LP ad alta densità (c-HDL) e bassa densità (c-LDL). Si è tuttavia più recentemente osservato che la sola determinazione di questi parametri non è sufficiente per predire in modo accurato il rischio CAD. È emersa pertanto la necessità di sviluppare nuove metodologie di *profiling* completo delle LP per fini diagnostici. Il lavoro qui presentato ha come obiettivo la messa a punto di un metodo basato sull'utilizzo della tecnica di frazionamento in campo di flusso-flusso (*Flow Field-Flow Fractionation*, F4) accoppiata a rivelazione Multi-Angle Laser Scattering (MALS) ed analisi enzimatica mediante FIA UV/Vis.

La F4 è una tecnica che ben si presta alla separazione pseudo-cromatografica delle LP del siero in quanto particolarmente adatta ad essere applicata ad analiti di altissimo peso molecolare. Analogamente, il MALS è adatto alla rivelazione selettiva e alla determinazione dimensionale delle LP seriche. L'accoppiamento F4-MALS si dimostra quindi un potente strumento non solo separativo ma anche di caratterizzazione morfologica delle LP. Le due tecniche accoppiate forniscono infatti parametri dimensionali indipendenti quali il raggio idrodinamico (R_h) ed il raggio di girazione (R_g) dai quali è possibile ottenere informazioni sulla forma e sulla distribuzione di densità delle particelle lipoproteiche [1].

La tecnica F4-MALS non permette tuttavia di ottenere informazioni sulla composizione lipidica di ciascuna classe di LP separate. Nelle analisi cliniche di routine la determinazione del c-HDL, del colesterolo totale (CT), e dei trigliceridi (TG) del siero si basa su metodi enzimatico/spettrofotometrici UV/Vis, mentre il c-LDL è ottenuto in modo indiretto [2]. Per determinare in modo diretto e mediante una singola analisi il colesterolo, o in alternativa i trigliceridi, contenuti in ciascuna classe di LP, in questo lavoro è stato quindi sviluppato e messo a punto un metodo enzimatico/spettrofotometrico FIA (*Flow-Injection Analysis*) post-frazionamento, che si basa sul miscelamento delle frazioni di LP eluite in F4 con il cocktail enzimatico impiegato nelle analisi cliniche di routine per la determinazione selettiva del CT e dei TG. Al fine di ottimizzare il metodo è stato condotto uno studio per valutare la velocità della reazione enzimatica, e quindi il volume del reattore in cui avviene la reazione, in funzione delle velocità dei flussi impostati. I risultati ottenuti sono stati infine confrontati con quelli che si ottengono applicando le metodiche di analisi clinica standard.

1. Rambaldi D.C., Zattoni A., Casolari S., Reschiglian P., Johann C., *Clin. Chem.*, 2007, 53, 2026.
2. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S., *Clin. Chem.*, 1972, 18, 499.