



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

**TESIS DOCTORAL**

**CAPACIDAD ANTIATEROGÉNICA Y  
ANTIINFLAMATORIA DE LAS HDL EN  
LA HIPERLIPEMIA FAMILIAR  
COMBINADA. EFECTOS DEL  
TRATAMIENTO HIPOLIPEMIANTE.**

Programa de Doctorado en Medicina  
Departamento de Medicina. Facultad de Medicina.  
Universitat Autònoma de Barcelona.

2018

Directores de Tesis:

Dr. Antonio Pérez Pérez

Dr. Alberto De Leiva Hidalgo

Doctorando:

José M. Cubero Marcos



## **AGRADECIMIENTOS:**

Al Dr. Antonio Pérez Pérez, Director de Unidad del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital de Sant Pau, por su apoyo y colaboración en la dirección de esta tesis durante este largo proceso de génesis y elaboración tras intentos previos infructuosos. Su experiencia, clarividencia y ayuda han sido fundamentales para que este proyecto sea una realidad. Gran parte del espíritu de esta tesis es tuyo. Gracias por tu enseñanza a lo largo de todos estos años.

Al Prof. Alberto de Leiva Hidalgo, Catedrático Emérito de la Universitat Autònoma de Barcelona, tutor y co- director de la presente tesis, por la confianza, comprensión y el afecto que me ha transmitido desde que nos conocemos. El ánimo que siempre me ha aportado para completar mis estudios de doctorado ha tenido un peso sustancial en la realización de esta tesis doctoral y su ayuda en momentos críticos ha sido clave para llegar hasta aquí.

Al Dr. Juan Sánchez, quien ha colaborado de modo destacado en el proyecto con el asesoramiento estadístico y siempre ha estado abierto a resolver mis dudas con una sonrisa.

Al Dr. José Luís Sánchez-Quesada por la ayuda con las determinaciones de los parámetros analíticos en los estudios que están incluidos en esta tesis doctoral. Sus extensos conocimientos sobre el metabolismo lipídico y las HDLs han aportado luz a mis dudas en muchos momentos del proceso.

A todo el personal del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital de Sant Pau por el ánimo y las manifestaciones de apoyo que me han brindado durante este camino, por ofrecerme su cariño y haberme ayudado a crecer como profesional y como persona a lo largo de todos estos años. Se me hace difícil destacar a alguien pero sí deseo agradecer a Valeria Alcántara, a Pedro Gil y a Analia Ramos que se brindasen para cubrir mis ausencias, bien por motivos personales o para acelerar la elaboración de la tesis. Gracias a ellos y a todos los que me ayudan en el día a día, bien desde el hospital o desde la distancia como Ana Aulinas, sin olvidar a todo el personal de Enfermería con María José a la cabeza.

A mis hermanos, Inma, Mar y Manu, por ser la esencia de mi existencia diaria, por su saber estar, por su comprensión en los buenos y malos momentos, por estar siempre ahí, por su cariño y por ser parte imprescindible de todo lo bueno en mi vida. A Begoña y a mi sobrina Noa por la ilusión que me hacen brotar todos los días.

Finalmente, agradecer de todo corazón a mis padres, allá donde estén, todo su amor y todo lo bueno que me enseñaron a lo largo de cada uno de los días que compartimos. Sé que les haría mucha ilusión ver la culminación de este proyecto. Mil gracias por ser simplemente los mejores.



## **ABREVIACIONES**



## **ABREVIACIONES:**

AAPH: 2,2'-Azobis(2-amidinopropano) dihidrocloridato  
Acetil CoA: acetil coenzima A  
AGLs: ácidos grasos libres  
ANGPTL3: angiopoyetina-like 3  
Apo : apolipoproteína  
ASP: proteína estimuladora de la acilación  
AVC: accidente cerebrovascular  
BHT: Butil hidroxitolueno  
CAC: calcio arterial coronario  
CaCl<sub>2</sub>: cloruro cálcico  
CDKN2B: inhibidor 2B de la kinasa ciclin-dependiente  
CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol  
CCR2: receptor de quimioquinas del monocito  
CML: células musculares lisas  
CHD/CAD: enfermedad arterial coronaria  
CSFs: factores estimuladores de colonias  
CuSO<sub>4</sub>: sulfato de cobre  
DM: diabetes mellitus  
EAC: enfermedad arterial coronaria  
EC: ésteres de colesterol  
ECV: enfermedad cardiovascular  
EDTA : ácido etilendiaminotetraacético  
ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas  
FABP2: Fatty acid-binding protein 2  
FCR: tasa de excreción fraccionada  
FG: filtrado glomerular  
FMD: dilatación de la arteria braquial mediada por flujo  
FOXA2: Forkhead Box Protein A2  
G-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos  
GM-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos  
HbA1c: hemoglobina glicosilada  
HDL: lipoproteínas de alta densidad  
HDL A-I: contenido proporcional de apo A-I en las HDLs  
HDL A-II: contenido proporcional de apo A-II en las HDLs  
HDL-Col: contenido proporcional de colesterol en las HDLs  
HDL-Tg: contenido proporcional de triglicéridos en las HDLs  
HDL-Fos: contenido proporcional de fosfolípidos en las HDLs  
HDL-NEFA: contenido proporcional de NEFAS en las HDLs  
HDL PAF-AH: actividad PAF-AH en las HDLs  
% HDL PAF-AH: proporción de PAF-AH en las HDLs  
HF: hipercolesterolemia familiar  
HFH: hipercolesterolemia familiar heterocigota  
HFC: hiperlipemia familiar combinada  
HiperTG: fenotipo hipertrigliceridémico  
HiperCol: fenotipo hipercolesterolémico



HL: hiperlipémicos  
HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina  
HPLC: cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas  
HR: hazard ratio  
HSL: lipasa hormonosensible  
HTA: hipertensión arterial  
IAM: infarto agudo de miocardio  
ICAM-1: Molécula 1 de adhesión intercelular  
IDL: lipoproteínas de densidad intermedia  
IFN: interferón  
IL: interleukina  
IMC: índice de masa corporal  
IMT: grosor de la íntima-media carotídea  
Inh. Rf: inhibición de la movilidad electroforética relativa de las LDLs inducida por las HDLs  
KBr: bromuro potásico  
KL2: Krüppel-like factor 2  
LCAT: lecitina colesterol aciltransferasa  
LDL (-): LDL electronegativa  
LDLR: receptor hepático de las LDLs  
LDL: lipoproteínas de baja densidad  
LDL Ox: LDL oxidada  
LH: lipasa hepática  
Lp (a): lipoproteína (a)  
Lp: lipoproteína  
LOH: hidróxidos de lípidos  
LOHH: hidroperóxidos de lípidos  
LOX-1: receptor-1 de la lipoproteína de baja densidad oxidada lectin like  
LPL: lipoprotein lipasa  
Lp-PLA2: lipoproteína asociada a fosfolipasa A2  
MCP-1: proteína -1 quimiotáctica de los monocitos (MCP-1)  
M-CSF: factor estimulador de colonias de macrófagos  
MPO: mieloperoxidasa  
MPP: metaloproteinasas de matriz  
mRNA: RNA mensajero  
NaCl: cloruro sódico  
NCEP-ATP-III : National Cholesterol Education Program (NCEP)-Adult Treatment Panel III  
NEFA: ácidos grasos no esterificados  
NO: óxido nítrico  
NL: normolipémicos  
ONOO (-): peroxinitrito  
OR: odds ratio  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
PAF: factor activador de las plaquetas  
PAF-AH: acetilhidrolasa del factor activador de las plaquetas  
PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1  
PCR: proteína C reactiva  
PCSK9: plasma proprotein convertase subtilitinkexin type 9

PLA2: fosfolipasa A2  
PLTP: proteína transferidora de fosfolípidos  
PON-1: paraoxonasa 1  
PPAR: receptores activados por proliferadores de peroxisomas  
PSGL-1: P-selectin glycoprotein ligand-1  
rHDLs: HDLs reconstituidas  
Rf: movilidad electroforética relativa  
RLP-C: colesterol de las lipoproteínas remanentes  
RLP-TG: triglicéridos de las lipoproteínas remanentes  
ROS: especies reactivas del oxígeno  
RR: riesgo relativo  
SCORE (tabla de riesgo): Systematic Coronary Risk Evaluation  
TAC: tomografía axial computerizada  
TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico  
TC: tendencia a correlación estadística significativa  
TF: factor tisular procoagulante  
Th: linfocitos T helper  
TG: triglicéridos  
TGF $\beta$ : factor de crecimiento transformante  $\beta$   
TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$   
t-PA: Activador Tisular del Plasminógeno  
Tris-HCL: hidrocloreuro de trisaminometano  
TSH: tiotropina  
USF1: transcription factor upstream stimulatory factor 1  
VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular-1  
VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad  
vWF: factor de Von Willebrand



# ÍNDICE



<b>ABREVIACIONES</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>23</b>
<b>1. HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA (HFC).....</b>	<b>25</b>
<b>1.1 Etiopatogenia y fisiopatología de las alteraciones lipídicas en la HFC.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2 Mecanismos contribuyentes a las alteraciones lipídicas en la HFC .....</b>	<b>28</b>
<b>1.3 Características clínicas y diagnóstico de la HFC.....</b>	<b>32</b>
<b>1.4 Pronóstico de la HFC.....</b>	<b>36</b>
<b>1.5 Tratamiento de los pacientes con HFC.....</b>	<b>37</b>
<b>2. RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA HFC.....</b>	<b>41</b>
<b>2.1 Enfermedad cardiovascular clínica .....</b>	<b>41</b>
<b>2.2 Enfermedad aterosclerótica subclínica.....</b>	<b>42</b>
<b>2.3 Asociación de parámetros lipídicos con la enfermedad cardiovascular.....</b>	<b>44</b>
<b>2.4 Genética de la HFC y riesgo cardiovascular.....</b>	<b>45</b>
<b>3. ATEROSCLEROSIS E INFLAMACIÓN. POTENCIAL CONTRIBUCIÓN EN LA HFC .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1 Alteraciones lipídicas y aterosclerosis.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2 Subpoblaciones celulares y aterosclerosis.....</b>	<b>55</b>
<b>3.3 Citoquinas, quimioquinas y otros marcadores inflamatorios.....</b>	<b>57</b>
<b>JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO</b>	<b>67</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>73</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>77</b>
<b>1. ESTUDIOS INCLUIDOS .....</b>	<b>79</b>
<b>1.1 Estudio clínico transversal.....</b>	<b>79</b>
<b>1.2 Estudio clínico longitudinal.....</b>	<b>80</b>
<b>1.3 Criterios diagnósticos de hiperlipemia familiar combinada.....</b>	<b>81</b>

<b>2. METODOLOGÍA .....</b>	<b>82</b>
<b>2.1 Historia clínica.....</b>	<b>82</b>
<b>2.2 Medidas antropométricas y de la presión arterial.....</b>	<b>82</b>
<b>2.3 Determinaciones analíticas.....</b>	<b>82</b>
<b>2.4 Recogida de datos y análisis estadístico.....</b>	<b>89</b>

---

**RESULTADOS 91**

<b>1. ESTUDIO TRANSVERSAL .....</b>	<b>91</b>
<b>1.1 Caracterización antropométrica-metabólica .....</b>	<b>93</b>
<b>1.2 Parámetros inflamatorios y citoquinas.....</b>	<b>105</b>
<b>1.3 Modificaciones de las LDLs.....</b>	<b>111</b>
<b>1.4 Modificaciones cualitativas y funcionales de las HDLs.....</b>	<b>115</b>
<b>2. ESTUDIO LONGITUDINAL.....</b>	<b>127</b>
<b>2.1 Tratamiento farmacológico en el estudio longitudinal.....</b>	<b>129</b>
<b>2.2 Modificaciones de las características antropométrico-metabólicas .....</b>	<b>132</b>
<b>2.3 Consecución de objetivos lipídicos con el tratamiento.....</b>	<b>142</b>
<b>2.4 Modificaciones de los parámetros inflamatorios y citoquinas.....</b>	<b>144</b>
<b>2.5 Modificaciones de las características de las LDLs con el tratamiento.....</b>	<b>149</b>
<b>2.6 Modificaciones de las características de las HDL.....</b>	<b>152</b>

---

**DISCUSIÓN 161**

<b>1. CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS EN LA HFC.....</b>	<b>163</b>
<b>2. ESTADO INFLAMATORIO EN LA HFC.....</b>	<b>171</b>
<b>3. MODIFICACIONES DE LAS LDLs EN LA HFC.....</b>	<b>177</b>
<b>4. CARACTERÍSTICAS DE LAS HDLS EN LA HFC.....</b>	<b>180</b>
<b>5. RESPUESTA TERAPEÚTICA EN LA HFC.....</b>	<b>192</b>
<b>5.1 Modificaciones de parámetros lipídicos generales.....</b>	<b>192</b>
<b>5.2 Modificaciones de las LDLs con el tratamiento.....</b>	<b>196</b>

5.3 Modificaciones de parámetros inflamatorios y citoquinas .....	199
5.4 Modificaciones de características de las HDL.....	200
6. APORTACIONES DEL ESTUDIO.....	207
7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	208
<b><u>CONCLUSIONES</u></b>	<b><u>209</u></b>
<b><u>LINEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS</u></b>	<b><u>213</u></b>
<b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b>	<b><u>215</u></b>
<b><u>ANEXO TABLAS CORRELACIONES DE LOS ESTUDIOS</u></b>	<b><u>285</u></b>
<b><u>CERTIFICADO DIRECCIÓN TESIS</u></b>	<b><u>353</u></b>





## **RESUMEN**



## **RESUMEN:**

La hiperlipemia familiar combinada (HFC) es la dislipemia genética más prevalente y se asocia a un elevado riesgo cardiovascular.

El objetivo de esta tesis doctoral es definir las características del proceso inflamatorio y las modificaciones de las HDLs y LDLs asociadas a los cambios en el metabolismo lipídico en la HFC, e investigar los efectos de la terapéutica hipolipemiente sobre las mismas.

Se realizaron dos estudios para evaluar estos objetivos. Inicialmente, un estudio transversal con 110 pacientes con HFC sin terapia hipolipemiente y 93 controles sin la dislipemia. El segundo, un estudio longitudinal de 57 de los pacientes del estudio transversal valorados antes y después del inicio del tratamiento hipolipemiente (seguimiento medio  $98,33 \pm 60,31$  días).

Los resultados globales mostraron que la HFC se asocia a un estado de inflamación de bajo grado con elevación de la proteína C reactiva y de las quimioquinas leucocitarias sin modificación a corto plazo con el tratamiento hipolipemiente. Las LDL son modificadas oxidativamente y se favorece un fenotipo de partículas pequeñas y densas que son revertidas con el tratamiento. La disminución de LDL oxidada con el tratamiento parece depender más de la reducción de los niveles de LDL que de una menor susceptibilidad a oxidación producida por las HDL. Las HDL muestran un enriquecimiento en triglicéridos y en apo A-II y una reducción de apo A-I que mejoran con la terapia hipolipemiente. La actividad PAF-AH total y en las HDLs estaba aumentada y se corrigió con el tratamiento.

Por tanto, la HFC se caracteriza por un estado de inflamación de bajo grado, cambios en el proteoma y lipidoma de las HDL y fenómenos prooxidativos. El tratamiento hipolipemiente a corto plazo mejora los cambios oxidativos y de las HDL sin un efecto significativo en el proceso inflamatorio.



## **SUMMARY:**

Combined familial hyperlipidemia (HFC) is the most prevalent genetic dyslipidemia and is associated with a high cardiovascular risk.

The aim of this doctoral thesis is to define the characteristics of the inflammatory process and the modifications of HDLs and LDLs associated with changes in lipid metabolism in HFC, and to investigate the effects of lipid-lowering therapy on them.

Two studies were conducted to evaluate these objectives. Initially, a cross-sectional study with 110 patients with HFC without lipid-lowering therapy and 93 controls without dyslipidemia. Afterwards, a longitudinal study of 57 of the patients participating in the cross-sectional study assessed before and after the start of lipid-lowering treatment (mean follow-up  $98.33 \pm 60.31$  days). The overall results showed that HFC is associated with a low-grade inflammation state including elevation of C-reactive protein and leukocyte chemokines plasma levels without short-term modification with lipid-lowering therapy. The LDL shows oxidative modifications and a phenotype of small and dense particles that are reversed with the treatment. The decrease in oxidized LDL with treatment seems to depend more on the reduction of LDL levels than on a lower susceptibility to oxidation produced by HDL. HDL show an enrichment in triglycerides and in apo A-II and a reduction of apo A-I that improve with lipid-lowering therapy. The PAF-AH total activity and in the HDLs was increased and corrected with the treatment.

Therefore, HFC is characterized by a state of low-grade inflammation, changes in the proteome and lipidoma of HDL and pro-oxidative phenomena. The short-term lipid lowering treatment improves the oxidative and HDL changes without a significant effect on the inflammatory process.



# **INTRODUCCIÓN**





## **1. HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA (HFC)**

La hiperlipemia familiar combinada (HFC) es el trastorno del metabolismo lipídico hereditario más frecuente. Fue definida inicialmente por Goldstein en los años 70 en un estudio de pacientes supervivientes de infarto agudo de miocardio (IAM) (1) y se caracteriza por: (a) aumento en la colesterolemia y/o trigliceridemia en al menos dos miembros de la misma familia, (b) variabilidad intraindividual e intrafamiliar del fenotipo lipídico, y (c) riesgo aumentado de enfermedad coronaria prematura (antes de los 60 años de edad) (1),(2).

La prevalencia estimada de la HFC es de 0.5%–2.0%, siendo la más frecuente en pacientes con coronariopatías. En los supervivientes de un infarto de miocardio (IAM) es de un 38% si estos son menores de 40 años (3) y de un 20% si tienen menos de 60 años de edad (4).

Aunque se puede presentar en los niños, habitualmente se expresa a partir de la segunda década de la vida con hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia, así como con una gran variación fenotípica intraindividual e interindividual, en respuesta a la interacción entre factores genéticos y ambientales como la alimentación, el aumento del peso corporal, el consumo de alcohol y el tiempo de evolución (5), (6).

La HFC se asocia con frecuencia a numerosas alteraciones metabólicas, como la hipertensión arterial (HTA), la obesidad centrípeta, la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus (DM) tipo 2, la esteatosis hepática y el síndrome metabólico (7), (8).

### **1.1 Etiopatogenia y fisiopatología de las alteraciones lipídicas en la HFC**

La HFC es una enfermedad genética compleja que implica múltiples genes que afectan diferentes vías metabólicas subyacentes a su causa (9). Estos genes asociados con susceptibilidad a la HFC interactúan con factores ambientales relacionados con hábitos del estilo de vida no saludables, dando lugar a un fenotipo de dislipemia mixta. Diversas alteraciones metabólicas han demostrado su contribución a la aparición de la HFC como la esteatosis hepática, la sobreproducción de VLDL, el metabolismo alterado de las VLDL y el tejido adiposo disfuncional (9). Los familiares de individuos con HFC son especialmente propensos a desarrollar dislipemia e insulinoresistencia con aumentos relativamente moderados de peso (10). Este hecho favorece una frecuente aparición de síndrome metabólico y una mayor expresividad de la enfermedad incluso a edades precoces.

La obesidad abdominal, la insulinoresistencia, la esteatosis hepática no enólica, la HTA, el colesterol HDL bajo, un fenotipo de partículas de LDL pequeñas y densas, inflamación de bajo grado, la disfunción endotelial, el grosor y rigidez aumentadas de la pared arterial y un estado procoagulante constituyen manifestaciones fenotípicas de la HFC.

Aunque se han relacionado más de 40 genes y locis genéticos con la HFC (9), (11) solo una parte de los mismos han podido ser vinculados a las vías metabólicas alteradas en la enfermedad.

Uno de los genes más replicados e investigados es el transcription factor upstream stimulatory factor 1 (USF1). USF1 codifica un regulador de la transcripción que controla una multiplicidad de genes, entre ellos los de algunas apolipoproteínas, enzimas y transportadores que participan en el metabolismo de los lípidos y de la glucosa (11). Se desconocen los mecanismos moleculares exactos por los cuales la variación genética en USF1 contribuye a la causa y el fenotipo de la HFC. Las variantes de USF1 pueden afectar al metabolismo hepático de los triglicéridos modulando la expresión de la proteína transferidora de triglicéridos microsomal inducida por la proteína FOXA2 (Forkhead Box Protein A2) (12). Se han asociado a la HFC genes con potencial participación en vías metabólicas del colesterol o de los triglicéridos como los de la apo E, el de la lipoproteinlipasa, el de la angiopoyetina-like 3 (ANGPTL3), el del FABP2, el de la lipasa hepática, el de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), el de lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT), el cluster génico apo A1-C3-A4-A5, el de la apo B, el del receptor hepático de las LDLs (LDLR) (11) o el de PCSK9 ( plasma proprotein convertase subtilitinkexin type 9) (13) . Los pacientes con HFC muestran marcadores elevados de la síntesis de colesterol (14), (15), (16), los cuales se correlacionan con los niveles de PCSK9 (17).

La disfuncionalidad del tejido adiposo que puede contribuir a las alteraciones halladas en la HFC y se ha descrito en los adipocitos subcutáneos de estos pacientes una regulación positiva del gen CDKN2B del ciclo celular (18) y de la vía del complemento (19).

Analíticamente, los datos más frecuentemente hallados en la HFC son un aumento de los triglicéridos (TG) plasmáticos y de las concentraciones de colesterol, una elevada prevalencia de partículas con apolipoproteína B más pequeñas y densas (VLDL y LDL) e incremento de los niveles plasmáticos de apolipoproteína B100 (apo B) (20). Algunos pacientes pueden presentar un descenso de los niveles plasmáticos de colesterol HDL, frecuentemente en correlación inversa con los de los triglicéridos (21).

#### *a) Alteraciones de las VLDLs en la HFC*

Las elevadas concentraciones de VLDL son un hallazgo muy frecuente en esta dislipemia genética. Mecanismos vinculados a su síntesis y a su catabolismo parecen subyacer a este hecho. Se ha documentado como factor principal un incremento de la síntesis de VLDL y de apo B a nivel hepático (22). Si bien su origen no es del todo bien conocido, un mecanismo publicado de la misma es un aumento de los niveles de ácidos grasos libres por disminución de su oxidación y reesterificación en el tejido adiposo. El flujo incrementado de los mismos hacia el hígado da lugar a una mayor síntesis y secreción de las lipoproteínas y triglicéridos a nivel hepático a través de la

elevación de la expresión del gen de la apo B (23). La disfuncionalidad del tejido adiposo y alteraciones en la incorporación de ácidos grasos en los triglicéridos podrían contribuir a ello. Se ha descrito en estos pacientes un retraso o disminución de la actividad del complemento C3, precursor de la proteína estimuladora de la acilación, a nivel postprandial que puede limitar la captación de ácidos grasos libres a nivel periférico y aumentar sus niveles plasmáticos (24). Por tanto, la contribución más probable al incremento de la producción de apoB y de VLDL son las concentraciones aumentadas de ácidos grasos libres plasmáticos.

Por otro lado se han hallado disminuciones en la actividad de la lipoproteinlipasa (LPL) (25), (23) y alteraciones en las de LCAT (26) y/o lipasa hepática (27) que favorecen una reducción del catabolismo de las VLDLs y una mayor conversión a LDLs pequeñas y densas (28). Un 36% de los individuos con HFC tienen masa y actividad de LPL disminuidas postheparina según estudios (29). Este hecho se ha relacionado con mutaciones de su gen descritas en subpoblaciones de estos pacientes (30) o como una respuesta a las concentraciones aumentadas de ácidos grasos libres (31), a la insulinoresistencia (32) o a niveles elevados de apo C-III, como en la obesidad, (33) las cuales reducen la actividad de este enzima. Obesidad centrípeta e insulinoresistencia como veremos se asocian con frecuencia a la HFC.

#### *b) Alteraciones de las LDLs en la HFC*

Los datos disponibles sobre la hipercolesterolemia en la HFC sugieren mecanismos tanto relacionados con la absorción como con la síntesis del colesterol en esta entidad. Los estudios han mostrado una menor absorción de colesterol (niveles inferiores de colestanol y sitosterol) (34), (35) y mayor síntesis de colesterol (niveles mayores de sitostanol, desmosterol y lanosterol) en estos pacientes (34), (16). En la hiperlipemia familiar combinada, la síntesis de LDL-apo B aumenta debido a una sobreproducción incontrolada de apo B (36), mientras que no se han descrito alteraciones mayores en la tasa de catabolismo hepático de LDL.

Por otro lado, se han publicado en la hiperlipemia familiar combinada asociaciones a diversos genes con un papel en el metabolismo del colesterol como el gen de la PCSK9 (cuya proteína se une al receptor de la LDL y promueve su degradación en los lisosomas), el de la apo B o el del propio receptor hepático de las LDLs (LDLR) con potencial papel en el origen de la hipercolesterolemia, si bien en este último caso su papel parece ser modesto (11).

El fenotipo predominante de las LDLs en esta dislipemia es el fenotipo B con partículas pequeñas y densas (37). Su presencia, fundamentalmente asociada a la hipertrigliceridemia, conlleva un menor contenido de colesterol y mayor de apo B en las mismas.

Las LDL de los pacientes con HFC, independientemente de sus fenotipo, son más susceptibles a la oxidación in vitro que las LDLs de controles sanos. La abundancia de LDLs pequeñas y densas favorece la mayor susceptibilidad a la oxidación in vitro de estas lipoproteínas en la HFC (38).

*c) Alteraciones de las HDLs en la HFC*

Es frecuente hallar concentraciones plasmáticas bajas de cHDL en la HFC. Como más adelante detallaremos, entre los determinantes de la reducción global de estas lipoproteínas y de sus formas grandes (HDL2) destaca el aumento de su contenido en triglicéridos y el incremento de actividad de la lipasa hepática (LH) teniendo un rol secundario la lipoprotein lipasa (LPL) y la actividades de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) (39). En esta enfermedad hay más VLDL1 (pobres en apo A-I y en apo E) y LDLs pequeñas y densas lo que se asocia a menores concentraciones de cHDL (40).

## **1.2 Mecanismos contribuyentes a las alteraciones lipídicas en la HFC**

La **obesidad visceral** y la **insulinorresistencia** son situaciones clínicas que se asocian con frecuencia a la hiperlipemia familiar combinada y comparten algunos rasgos característicos con ella. Una mayor producción de apo B, concentraciones elevadas de triglicéridos y bajas de cHDL así como mayores niveles de partículas de LDL pequeñas y densas son frecuentes en ambas entidades clínicas (41).

La insulinorresistencia puede ser un factor modulador del fenotipo con el que la hiperlipemia familiar combinada se presenta. La resistencia a la insulina se asocia habitualmente a un predominio de las partículas de LDL pequeñas y densas (42) y a una liberación postprandial excesiva de ácidos grasos libres cuyo flujo aumentado hacia los hepatocitos favorece un incremento de la síntesis de triglicéridos, apo B y VLDLs (43). Además las lipoproteínas ricas en triglicéridos tienen un catabolismo disminuido al reducirse la activación de la LPL mediada por insulina (41).

Se ha descrito un aumento tanto en ayunas como postprandial de los ácidos grasos libres no esterificados (NEFA) y una reducción de la supresión de los NEFA mediada por insulina en pacientes con HFC hipertriglicéridémicos (44). El defecto en la capacidad de la insulina de suprimir la liberación de ácidos grasos libres da lugar a una concentración sérica elevada de éstos, y en los tejidos periféricos, particularmente el músculo esquelético, los niveles elevados de ácidos grasos libres bloquean la oxidación de la glucosa, causando insulino resistencia (45).

La hipertrigliceridemia es un hallazgo común en sujetos con obesidad abdominal (46). En varones con HFC, la sensibilidad a la insulina (medida por test de tolerancia a la glucosa intravenoso) se asoció de modo inverso con la grasa intraabdominal (medida por TAC) y el IMC, pero no con la grasa subcutánea (47). No obstante, también se ha descrito la insulinoresistencia en pacientes con HFC no obesos según su IMC (48).

En la HFC, la acción de la insulina se halla alterada tanto a nivel de la supresión de los ácidos grasos libres séricos como en el consumo de glucosa, lo cual ha sido demostrado con estudios con el clamp hiperinsulinémico euglucémico. La captación media de glucosa corporal total era menor en varones con HFC e hiperlipemia mixta que en sus familiares no afectados (48), en ausencia de obesidad (medida por IMC), HTA o alteración de la tolerancia a la glucosa y de modo independiente a su edad y sexo.

Otros estudios han hallado resultados concordantes con lo mencionado. Los pacientes con HFC mostraron una captación de glucosa mediada por insulina alterada en los tejidos periféricos estudiada por la técnica del clamp, la cual era dependiente del aumento de la grasa corporal, y una alteración de la supresión de los ácidos grasos no esterificados séricos (NEFA) mediada por insulina, que era independiente del IMC y de la distribución de la grasa (49). Además se han demostrado defectos tanto en la oxidación de la glucosa como en la supresión de los ácidos grasos libres al estudiar familiares sin dislipemia de pacientes con HFC e hiperlipemia mixta (50). Estos hallazgos explicarían los hallazgos en pacientes con un fenotipo lipídico hipertrigliceridémico o combinado al cual se suele asociar la insulinoresistencia.

En un estudio con individuos con HFC (19 con hipercolesterolemia sola, 22 con hiperlipemia combinada y 14 con hipertrigliceridemia aislada) y 50 familiares no afectados, todos los miembros de familias con HFC, independientemente de su perfil lipídico, tenían niveles más altos de ácidos grasos libres que los controles, mientras que la captación de glucosa estimulada por insulina estaba disminuida solo en pacientes con hiperlipemia combinada o hipertrigliceridemia (51). El índice de HOMA en una cohorte de casi 150 pacientes con HFC mostró ser significativamente más elevado en pacientes con hipertrigliceridemia o hiperlipemia combinada en comparación con los pacientes con hipercolesterolemia aislada y familiares normolipémicos (52).

Sin embargo, en estudios con un test de tolerancia oral a la glucosa con más de 250 pacientes con HFC se halló una mayor tasa de disminución de la tolerancia oral a la glucosa no solo en los pacientes con una hiperlipemia combinada (54.3%) o hipertrigliceridemia (58.3%) sino también en los hipercolesterolémicos (20%) respecto a la de los controles (6%) (53).

En resumen, con los datos disponibles, la obesidad visceral y/o la insulino resistencia no explican por completo los niveles elevados de apo B o la elevada prevalencia de LDL pequeñas y densas en

la HFC. Estos resultados apoyan el concepto fisiológico de determinantes genéticos separados, pero aditivos, en la etiología del fenotipo lipídico de la HFC.

La **disfuncionalidad del tejido adiposo** puede contribuir a las manifestaciones de la HFC. Se han hallado datos que apuntan a defectos en el adipocito en la hiperlipemia familiar combinada y que se relacionan con el aumento de los ácidos grasos libres en plasma, un factor primordial en la patogénesis de esta entidad.

En la HFC existe un metabolismo defectuoso de los ácidos grasos libres a nivel postprandial y postabsortivo (54). La sobrecarga oral de grasa de 24 horas produjo en los pacientes con HFC e hiperlipemia mixta un aumento de cuerpos cetónicos postprandiales casi 4 veces más elevado y una disminución de ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos en el período postabsortivo respecto a los controles, sugiriendo un flujo aumentado de ácidos grasos libres hacia el hígado, posiblemente debido a un atrapamiento inadecuado de los ácidos grasos libres en el adipocito.

Se ha demostrado que el tejido adiposo de los pacientes con HFC se caracteriza por una eliminación de lípidos (triglicéridos) disminuida así como unas tasas de almacenamiento disminuidas, en comparación con los controles sanos. Por el contrario, el tejido adiposo de los sujetos obesos se caracteriza por una tasa de eliminación de triglicéridos disminuida, pero la cantidad de grasa almacenada está aumentada (55).

La hidrólisis de los triglicéridos de las VLDLs y de los quilomicrones plasmáticos por la LPL produce ácidos grasos libres que se almacenan en los adipocitos mediante un proceso de reesterificación intracelular a triglicéridos. Este proceso es mediado por la proteína estimuladora de la acilación (ASP) y modulado por insulina (56). La ASP se genera a partir del factor del complemento C3 secretado por el adipocito a través de la activación de la vía del complemento alternativa. La hidrólisis de estos triglicéridos intracelulares por la lipasa hormonosensible (HSL) produce de nuevo la liberación de ácidos grasos libres desde el adipocito. La vía del ASP modula la tasa a la cual los ácidos grasos son atrapados por los adipocitos y convertidos en TG. La ASP también influye en la tasa a la cual los ácidos grasos son liberados por los adipocitos. La liberación de ácidos grasos libres de los adipocitos viscerales es mediada por la acción de la HSL. Este efecto lipolítico de la HSL está inhibido por la hiperinsulinemia postprandial, mientras que las catecolaminas son las hormonas lipolíticas más importantes y activan la HSL.

Se ha estudiado una posible disminución de la actividad de la ASP o una resistencia al efecto de la misma en el adipocito como posible factor contribuyente en la HFC, dado que ello podría producir una disminución de la captación de ácidos grasos libres por los adipocitos y un aumento de sus niveles plasmáticos que favorezca la posterior producción aumentada de VLDLs hepática, hallazgos habituales en esta enfermedad.

Aunque inicialmente no se hallaron diferencias en los niveles plasmáticos de ASP ni en la respuesta de la ASP plasmática tras una comida grasa en sujetos hipertriglicéridémicos con HFC respecto a sus familiares normotriglicéridémicos (57), se ha sugerido que la ASP es generada solo localmente en el tejido adiposo y se ha demostrado que la generación de ASP en el tejido adiposo estaba acentuada postprandialmente in vivo (58). Estudios posteriores han hallado datos en HFC que sugieren una respuesta disminuida y posiblemente retrasada postprandial de C3, precursor de la ASP biológicamente activa, sobre el metabolismo de los ácidos grasos libres en la HFC (59).

Los estudios de la actividad de la lipasa hormonosensible (HSL) en la HFC han mostrado resultados discrepantes, posiblemente en relación a la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas y al fenotipo lipídico de las mismas, reportando unos una disminución de un 40% en la actividad máxima enzimática y correlacionada con las anomalías lipídicas de la enfermedad (60) y otros una normalidad en la actividad enzimática en el tejido adiposo (61). Este último grupo planteó con posterioridad que los genes de C3 y de HSL podrían ser modificadores del metabolismo lipídico y glucídico en la HFC dada la correlación de la expresión génica de C3 en el tejido adiposo con el área bajo la curva para glucosa e insulina y de la de HSL con el cociente cintura-cadera en los pacientes con esta dislipemia (62).

Aunque se precisan más estudios para confirmar estos hallazgos, la hipótesis que se ha propuesto en base a los mismos es la presencia de un defecto combinado en el almacenamiento de lípidos (como resultado de una acción disminuida de la insulina y de la ASP) y de la lipólisis (a través de una actividad disminuida de la HSL). Este hecho produciría un aumento de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres.

Los ácidos grasos libres activan la gluconeogénesis suministrando acetil coenzima A (acetil CoA), el cual estimula uno de los enzimas implicados en la gluconeogénesis hepática, la piruvato carboxilasa. En la HFC, las concentraciones de insulina plasmática en ayunas aumentadas asociadas con el síndrome de insulinoresistencia pueden ser secundarias a la alteración del metabolismo postprandial de los ácidos grasos. Los niveles elevados de ácidos grasos libres pueden conducir a un descenso en la captación de glucosa mediada por insulina tanto en el tejido adiposo como en el músculo esquelético (45) y a un aumento de la síntesis de lipoproteínas en el hígado (43). La hiperglucemia estimula la insulino secreción del páncreas para intentar mantener la normalidad de sus niveles plasmáticos dando lugar a una hiperinsulinemia.

En el gráfico 1 se esquematiza la fisiopatogenia de la HFC según lo expuesto previamente.



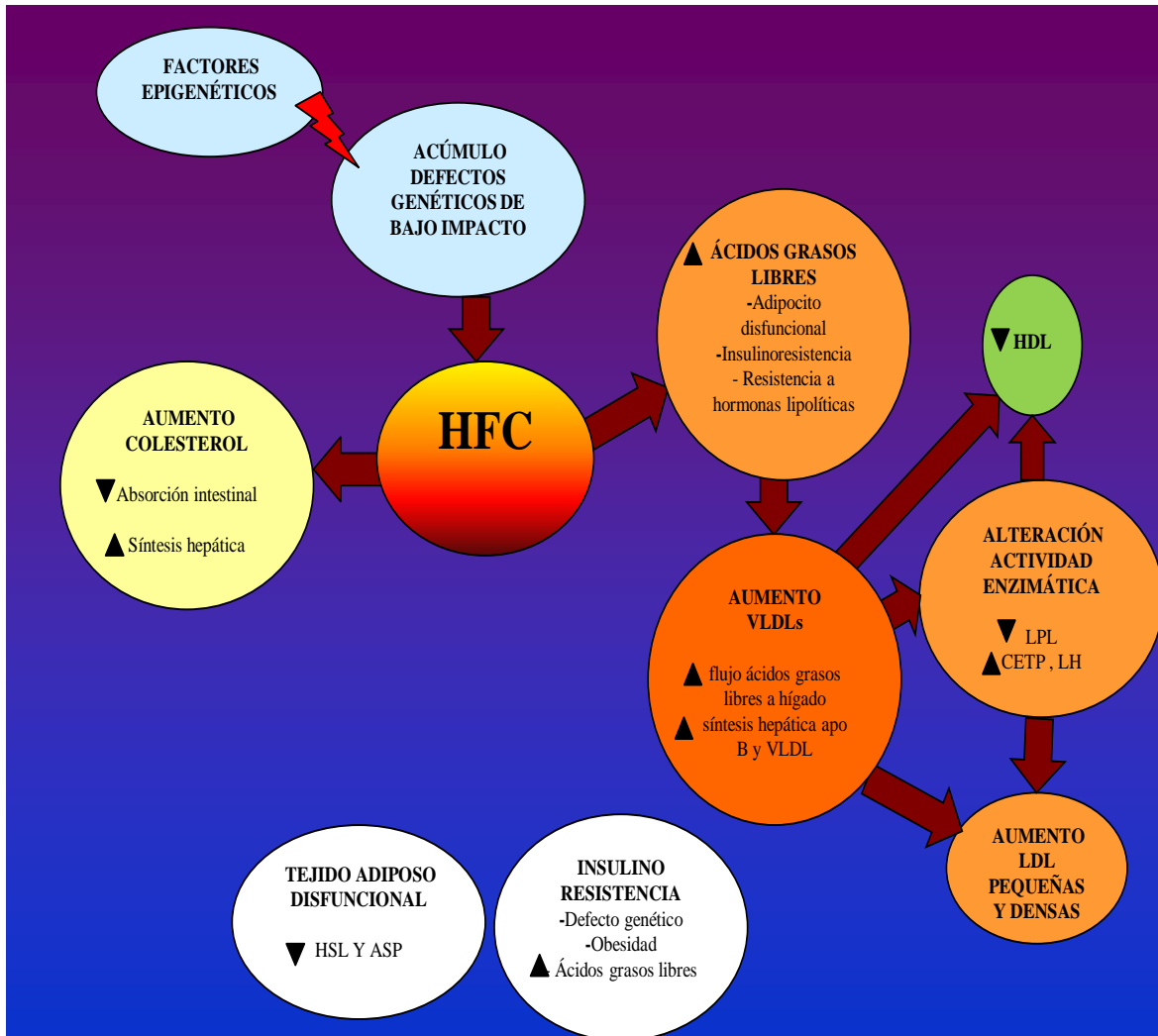


Gráfico 1. Fisiopatogenia de la HFC. Individuos con defectos genéticos predisponentes con/sin modulación por factores epigenéticos (dieta, ejercicio, .) determinan la génesis y expresión fenotípica de la enfermedad. La hipercolesterolemia se debe a un aumento de la síntesis hepática de apo B. La hipertrigliceridemia se basa en un aumento de los ácidos grasos libres y su flujo hepático condicionado por la disfuncionalidad del tejido adiposo que produce un incremento en la síntesis de VLDL. Las alteraciones de la actividad enzimática condicionan un menor catabolismo de las VLDL, un descenso de las HDL y se favorece un fenotipo de LDL pequeñas y densas. La obesidad y la insulinoresistencia pueden modificar la expresión fenotípica. LPL: lipoprotein lipasa. CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol, LH: lipasa hepática. HSL: lipasa hormonosensible. ASP: proteína estimuladora de la acilación.

### **1.3 Características clínicas y diagnóstico de la HFC**

Aunque se desconoce con exactitud su prevalencia poblacional, se estima que la HFC es padecida por un 1-2% de la población general (63) y que subyace al 30-50% de los casos de cardiopatía isquémica donde hay componente familiar. La prevalencia de sus fenotipos más habituales (la

hiperlipemia mixta y la hipertrigliceridemia aislada) es elevada en adultos (64). Su vinculación a la aterosclerosis ha sido demostrada en diversos estudios prospectivos (65), (66).

Originalmente fue descrita como ya hemos mencionado en 1973 (1) en familias con historia de cardiopatía isquémica precoz mostrando un patrón compatible con herencia autosómica dominante y elevaciones moderadas de colesterol y/o triglicéridos.

Se caracteriza por tres fenotipos lipídicos: hipercolesterolemia (fenotipo II), hipertrigliceridemia (fenotipo IV) ó ambas (fenotipo II b) y por tener fluctuaciones espontáneas en las concentraciones de colesterol y triglicéridos. Se puede hallar alternancia entre hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, una dislipidemia mixta o incluso normalización de la concentración de los lípidos séricos en el mismo individuo sin que exista ningún cambio en sus condiciones clínicas. No obstante, factores externos asociados como la obesidad pueden contribuir en cierta medida a modificar dichos patrones fenotípicos. En este sentido, algunos autores han planteado esta enfermedad como un trastorno poligénico donde se acumulan variantes genéticas de impacto limitado e influenciado por estresantes ambientales (67).

Las modificaciones del fenotipo lipídico son características de esta enfermedad. En un estudio holandés, tras 5 años de seguimiento, un 30% de los pacientes cambiaron su fenotipo lipídico y alrededor de un 20% pasaron de normolipemia a un patrón de alteraciones lipídicas o viceversa (7). En general, se desconoce la causa de las fluctuaciones de sus fenotipos lipídicos pero la normalización espontánea del perfil lipídico no implica la desaparición del riesgo cardiovascular. Así, individuos que tenían lípidos normales pero que habían sido considerados como afectados tenían una tasa de eventos cardiovasculares a 20 años similar a la de los sujetos hiperlipidémicos al diagnóstico (65). La explicación de este hecho puede radicar en la persistencia de apo B elevada en estas fases de aparente normalización lipídica. En este trastorno las concentraciones de la apoproteína B generalmente son superiores al percentil 90 poblacional y  $> 120$  mg/dL asociadas a una excesiva frecuencia de la misma en las LDLs. Con frecuencia la HFC muestra un predominio de las subclases pequeñas y densas de las LDLs. El contenido de colesterol en las LDL pequeñas y densas es menor de lo normal, lo que explica que los valores de colesterol y cLDL se mantengan en límites normales. Sin embargo su menor tamaño y su mayor tiempo de persistencia en plasma las exponen a más modificaciones oxidativas contribuyendo al riesgo aterogénico y de enfermedad cardiovascular asociado a la enfermedad.

Estos pacientes muestran en general concentraciones de cLDL y/o triglicéridos moderadamente elevadas (habitualmente  $<300$  mg/dl) aunque si coexisten con otros factores causales de dislipemia estos niveles pueden ser superiores.

Dos entidades clínicas se asocian con frecuencia a la hiperlipemia familiar combinada: la insulinoresistencia y los trastornos del metabolismo hidrocarbonado por un lado y la obesidad abdominal por otro. Este hecho conlleva en algunos casos un solapamiento sintomático con el síndrome metabólico y una dificultad de diagnóstico diferencial con el mismo.

La hiperlipemia familiar combinada es la dislipemia genética más frecuente en individuos con diabetes que sufren un infarto de miocardio no mortal. La insulinoresistencia en estos pacientes se relaciona con defectos tisulares en la captación de glucosa mediada por insulina y con una reducción de la supresión de los NEFAS mediada también por dicha hormona, tal como hemos explicado con anterioridad, y puede estar presente hasta en más del 50% de los casos. Su presencia en estos individuos puede modificar el fenotipo lipídico de presentación de los mismos. Las personas con HFC suelen presentar glucemias basales más elevadas que la población general (8). Aunque estos hallazgos son más característicos y marcados en los sujetos con fenotipo hipertriglicéridémico o mixto, también se ha evidenciado una frecuencia mayor a la poblacional en aquellos con fenotipo hipercolesterolémico (53). Además, se ha descrito una mayor incidencia de diabetes mellitus tipo 2 en estos sujetos con estudios mostrando un aumento de la prevalencia de la misma muy superior a la de sus conyuges tras 5 años de seguimiento (14% vs 2%) (68). La HFC coexiste con asiduidad con la obesidad de predominio abdominal y estos pacientes presentan mayor perímetro de cintura (7).

Una proporción significativa de pacientes con esta dislipemia genética comparten manifestaciones de síndrome metabólico y en algunos casos estas dos entidades clínicas se solapan. Se ha publicado una mayor asociación del síndrome metabólico a esta enfermedad. Un estudio griego halló una mayor prevalencia de síndrome metabólico en los individuos con HFC que en la población adulta general (42% vs 19.8%) y un aumento de la misma con la edad (8). En un estudio norteamericano la presencia de síndrome metabólico también fue superior entre las personas con HFC respecto a la población control (65% vs 19%) y se incrementaba si se consideraba aquellos con enfermedad arterial coronaria prematura (4).

Es importante tener en consideración los datos que nos pueden distinguir entre el síndrome metabólico y la HFC ya que, aunque comparten ciertos aspectos clínicos, manifiestan en su origen diferentes procesos fisiopatológicos como punto de partida de sus alteraciones lipídicas y algunas de ellas, como los niveles de apo B, no son explicables en los estudios por la proporción de grasa abdominal o la insulinoresistencia.

La hipertriglicéridemia y niveles plasmáticos bajos de cHDL pueden ser hallazgos frecuentes en ambas entidades clínicas. También es habitual que se asocien con otros factores de riesgo que les confieren un elevado riesgo cardiovascular (HTA, diabetes mellitus o intolerancia a la glucosa y obesidad abdominal). No obstante, existen criterios distintivos entre ambas. La variabilidad del

fenotipo lipídico intraindividual y entre miembros afectos de la familia así como el carácter hereditario de la enfermedad son típicos en la HFC. Asimismo estos sujetos manifiestan más precozmente las alteraciones clínicas y bioquímicas y presentan una constante elevación de los niveles plasmáticos de apo B, a diferencia del síndrome metabólico. La relevancia de un estilo de vida inadecuado tiene mayor peso en la expresión y pronóstico del síndrome metabólico que en la de la HFC y en el primero las concentraciones de cLDL suelen ser normales o bajas.

Los **criterios diagnósticos** concretos de esta dislipemia han generado controversia desde su definición inicial (69) y han sido modificados a lo largo del tiempo.

La falta de concordancia a la hora de definir los criterios bioquímicos a incluir en los mismos: colesterol total, cLDL, triglicéridos y el planteamiento de la incorporación a los mismos del colesterol HDL según algunos autores y, con más consistencia, de la apo B han sido motivo de desacuerdo entre las diferentes propuestas. Además, se han propuesto diferentes puntos de corte para establecer las anomalías de los parámetros lipídicos y el carácter poligénico de la enfermedad sin un marcador concreto de la misma han contribuido a la disparidad de las definiciones planteadas.

Durante mucho tiempo se empleó como diagnóstico unas concentraciones plasmáticas de colesterol o triglicéridos superiores al percentil 90 en el probando y al menos dos familiares, pero las llamadas a incorporar los niveles de apo B en la definición dada su fuerte asociación a la misma han sido insistentes.

En este sentido se han realizado estudios para evaluar la concordancia de su inclusión en los criterios de definición de la enfermedad y el impacto en los mismos. Utilizando 14 combinaciones de concentraciones de colesterol y de triglicéridos y 8 puntos de corte de la apo B la concordancia, medida como coeficiente kappa, no fue buena en la identificación de un sujeto como anormal cuando se aplicaron los diversos criterios diagnósticos. La concordancia entre todas las concentraciones de apoB incluidas en el análisis y los criterios más frecuentemente utilizados para la concentración de colesterol y triglicéridos ( $\geq$  percentil 90) fue baja (kappa inferior a 0,5) y tan solo unos niveles plasmáticos de triglicéridos  $\geq$  150 mg/dL y de colesterol  $\geq$  200 mg/dL mostraron una concordancia moderadamente aceptable con una apo B  $\geq$  120 mg/dL (kappa = 0,604) (70). No obstante, parece que la apo B, en relación a los niveles de colesterol y de triglicéridos, proporciona una menor dispersión del perfil lipídico en estos pacientes (71).

En 2004 se propuso en base a los resultados de un estudio prospectivo a 5 años un nomograma para el diagnóstico de la HFC combinando las concentraciones totales de apo B con las de colesterol total y triglicéridos ajustadas por edad y sexo superiores al percentil 90, y si estos no estuviesen disponibles emplear una combinación de triglicéridos  $>1.5$  mmol/l y de apo B  $> 1200$  mg/l (72). Definiciones planteadas con anterioridad (73) incluyendo solo concentraciones de triglicéridos y

apo B parecían no parecían las más adecuadas pues limitaban la detección de aquellos con fenotipo hipercolesterolémico.

Finalmente, un reciente consenso español (63), propuso los siguientes criterios diagnósticos de HFC:

1. *Persona afectada:*

En adultos: colesterol total > 240 mg/dl (o colesterol LDL (cLDL) > 160 mg/dl) y/o triglicéridos > 200 mg/dl

En menores de 20 años: colesterol total > 200 mg/dl (o cLDL > 130 mg/dl) y/o triglicéridos > 120 mg/dl

Descartar causas secundarias: índice de masa corporal > 35 kg/m<sup>2</sup>, HbA1c > 10%, hipotiroidismo no controlado y/o etilismo (> 40 g alcohol/día)

2. *Familia afectada:*

Dos o más miembros de primer grado (padres, hermanos, hijos) afectados de hiperlipidemia mixta, o de combinaciones de fenotipos, entre hipercolesterolemia pura (IIa), hiperlipidemia mixta (IIb) o hipertrigliceridemia (IV)

Se excluyen familias con xantomas tendinosos y/o cifras de cLDL > 300 mg/dl en 2 o más familiares de primer grado con fenotipo IIa

Historia familiar de enfermedad cardiovascular aterosclerótica prematura (< 60 años)

En base a estos criterios la disponibilidad de información sobre el mayor número de familiares posibles de la persona con la enfermedad es muy importante para establecer el diagnóstico.

#### **1.4 Pronóstico de la HFC**

Como ya hemos indicado, la HFC es muy frecuente en pacientes afectados por enfermedad arterial coronaria. El riesgo estimado basado en las tablas de riesgo usadas en la población general, probablemente infraestiman de modo significativo el riesgo real de los pacientes con HFC. Dada su asociación a la aterogenicidad en general se sugiere considerar a los pacientes con HFC sujetos de alto riesgo de EAC (enfermedad arterial coronaria) y ECV (enfermedad cardiovascular), como se confirmó por estudios familiares (1), (73), (74) y así lo consideran las guías de las sociedades científicas de referencia (75).

Desde su descripción inicial en 1973 hasta la actualidad numerosas publicaciones han aportado evidencias directas e indirectas de la elevada contribución de esta enfermedad al riesgo cardiovascular de quienes la padecen. Aunque en apartados posteriores describiremos más detalladamente los datos clínicos que sustentan este hecho, es importante reseñar que algunos

estudios prospectivos han relacionado la enfermedad con una mortalidad cardiovascular media del 18% a 10 años y con un riesgo relativo de la misma de 1,7 veces (65), (66).

Este riesgo viene conferido no solo por el asociado a las diversas alteraciones lipídicas que la definen sino que la variabilidad espontánea del fenotipo lipídico parece también asociarse con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular (76). Además la asociación frecuente a otros factores de riesgo como la hipertensión arterial, la diabetes mellitus o el síndrome metabólico contribuyen de manera significativa al peor pronóstico cardiovascular definido como infarto agudo de miocardio o muerte de causa cardiovascular (77). En los sujetos con síndrome metabólico, la presencia simultánea de HFC añade un 10-20% más de riesgo adicional de enfermedad arterial coronaria precoz (78). Algunos autores sugieren el riesgo aterogénico en estos pacientes es al menos tan elevado como el de los pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota (79).

Detalles adicionales sobre el riesgo cardiovascular asociado a esta enfermedad se aportarán más adelante en esta tesis doctoral donde describiremos como hay evidencias de su asociación con marcadores de aterosclerosis subclínica como el grosor de la íntima-media arterial carotídea, la disfunción del endotelio, la rigidez arterial, una mayor extensión y carga de placa ateromatosa coronaria y un incremento del riesgo de enfermedad clínica cardiovascular.

### **1.5 Tratamiento de la HFC**

La ausencia de datos específicos a largo plazo sobre la eficacia de la terapia hipolipemiente en objetivos duros en los pacientes con HFC hace que las principales recomendaciones propuestas para el tratamiento de la HFC se basen en los resultados obtenidos en ensayos clínicos a largo plazo en morbilidad y mortalidad cardiovascular.

Debido a su elevada aterogenicidad, la estratificación del riesgo cardiovascular mediante las tablas de riesgo (Framingham, SCORE) infraestima el riesgo en estos pacientes. Las guías europeas para el manejo de las dislipidemias y de prevención de la ECV (80), (75) clasifican a los pacientes con hiperlipidemias familiares como de alto riesgo cardiovascular, estableciendo los objetivos de control lipídico en base a ello.

Siguiendo estas directrices, el objetivo de cLDL es  $< 100$  mg/dl ( $< 2.6$  mmol/l) o una reducción de  $> 50\%$  de los niveles iniciales si no se puede lograr este objetivo y los niveles basales están entre 100-200 mg/dl (2.6-5.2 mmol/l). En casos con riesgo muy alto (presencia de enfermedad cardiovascular ya documentada, enfermedad renal crónica moderada o grave, DM con lesión de órgano diana (como proteinuria) o con un factor de riesgo mayor (como tabaco, HTA o dislipemia), insuficiencia renal crónica severa (FG  $< 30$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) o un score de riesgo calculado  $\geq 10\%$  a 10 años de enfermedad cardiovascular fatal), el objetivo es cLDL  $< 70$

mg/dl (< 1.8 mmol/l) o una reducción al menos del 50% si el basal es de 1.8-3.5 mmol/l (70-135 mg/dl).

Si las concentraciones plasmáticas de triglicéridos son superiores 400 mg/dl, la fórmula de Friedewald no permite un cálculo preciso del cLDL y se aconseja utilizar el colesterol no HDL (colesterol total menos cHDL) y la ApoB como objetivos subrogados o secundarios, tras la consecución del objetivo de cLDL. No obstante, algunos autores consideran que la capacidad de reducir el riesgo cardiovascular en pacientes con hiperlipemia mixta y el fenotipo lipídico aterogénico es mejor valorada por la reducción en el colesterol no HDL o la apolipoproteína B (81). El objetivo de control y tratamiento del colesterol no HDL sería <2.6 mmol/l y 3.4 mmol/l (100 y 130 mg/dL) para individuos de riesgo muy alto y alto respectivamente. Para la apo B, los objetivos serían concentraciones <80 mg/dL e <100 mg/dL en sujetos de muy alto o de alto riesgo respectivamente.

A pesar de que se sabe que un cHDL bajo se asocia con un exceso de eventos y mortalidad en pacientes con enfermedad arterial coronaria y que aumentos de cHDL han evidenciado relacionarse con una regresión de aterosclerosis, incluso cuando el cLDL es <1.8 mmol/l (70 mg/dl), aún no se han establecido objetivos específicos de cHDL, pero concentraciones >1.0 mmol/L (40 mg/dL) en hombres y >1.2 mmol/L (48 mg/dL) en mujeres indican un riesgo más bajo. Tampoco para los triglicéridos se establecen objetivos de tratamiento para prevención cardiovascular pero concentraciones <1.7 mmol/L (<150 mg/dL) indican un riesgo más bajo.

Inicialmente en su evaluación, al igual que en las restantes dislipemias, se han de descartar la coexistencia de causas secundarias de dislipemias y tratarlas adecuadamente.

En el abordaje terapéutico de estos pacientes, una medida primordial para la mejoría del control lipídico y la reducción del riesgo cardiovascular asociado es la adopción de un estilo de vida saludable (80) con unos buenos hábitos alimentarios acordes a la dieta mediterránea y que permitan corregir el exceso ponderal, la realización de ejercicio físico adecuado y la suspensión del tabaco (82), (83), (84), (85). Estas medidas son altamente coste-efectivas a la hora de tratar estos pacientes.

Teniendo en cuenta el elevado riesgo cardiovascular de esta enfermedad, la instauración de la terapia farmacológica hipolipemiente se llevará a cabo en el momento del diagnóstico o si no se han conseguido los objetivos lipídicos tras la modificación del estilo de vida en función de la respuesta a éstos y del grado de alteración lipídica inicial (72), (80).

La elección del fármaco hipolipemiente o de la combinación de ellas se hará en base a la magnitud del riesgo cardiovascular del paciente (alto o muy alto), de las concentraciones iniciales de cLDL y de triglicéridos y de los objetivos de control.

En un reciente consenso español sobre la HFC (63) se proponía un esquema terapéutico para esta enfermedad considerando las recomendaciones de las guías internacionales sobre dislipemia y riesgo cardiovascular que se muestra en el gráfico 2.

Con la terapia se buscarían objetivos de cLDL en general <100 mg/dl en adultos y <130 mg/dl en jóvenes sin otros factores de riesgo cardiovascular. Si el paciente además presentaba enfermedad cardiovascular previa o diabetes mellitus tipo 2 el objetivo sería <70 mmol/l. En caso de no lograrlo se habría de al menos reducir en >50% las concentraciones basales de cLDL. Para ello se iniciarían una optimización del estilo de vida y dieta hipolipemiante siendo el fármaco de elección las estatinas.

Las estatinas han demostrado su eficacia en la disminución de la morbimortalidad cardiovascular en grupos poblaciones de variado riesgo cardiovascular (86), (80). Los individuos con HFC suelen precisar de estatinas de alta potencia para poder lograr los objetivos terapéuticos de cLDL. Si pese a su uso, el cLDL no se sitúa en objetivos se habrá de valorar la asociación de ezetimibe, un inhibidor de la absorción del colesterol, o de una resina secuestradora de ácidos biliares.

Un importante aspecto a considerar es la presencia de un riesgo residual de eventos cardiovasculares pese a la optimización del cLDL con estatinas. Para evaluarlo se ha de tener en cuenta la contribución de otros parámetros lipídicos que han demostrado adicionales beneficios cardiovasculares si se controlan adecuadamente.

En caso de hipertrigliceridemia >400 mg/dl se plantea buscar objetivos de colesterol no HDL <130 mg/dl en general y <160 mg/dl en jóvenes sin otros factores de riesgo cardiovascular. Si el sujeto ya presenta antecedentes de enfermedad cardiovascular o diabetes tipo 2 el objetivo sería <100 mg/dl. En estos individuos si tras estatinas los triglicéridos persisten a >400 mg/dl y el colesterol no HDL elevado o en cualquier caso si los triglicéridos son >1000 mg/dl se han de iniciar fibratos (preferiblemente fenofibrato si ya está con estatina por el riesgo de miopatía severa asociado a la combinación con gemfibrozilo). Además niveles de triglicéridos >400-500 mg/dl conllevan riesgo de pancreatitis. Los fibratos reducen los triglicéridos un 20-50% y pueden aumentar el cHDL hasta un 20%. En el ensayo clínico Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (87) la adición de fenofibrato a la terapia con simvastatina en comparación con la monoterapia con dicha estatina mostró una reducción de significación borderline ( $P = 0.06$ ) en los eventos cardiovasculares mayores en personas con un nivel de triglicéridos de 204 mg/dL o mayores y un nivel de colesterol HDL de 34 mg/dL o menos. En caso de intolerancia a los fibratos estos se pueden sustituir por ácidos grasos omega 3.

En pacientes que además de la HFC presentan diabetes mellitus tipo 2 con insulinoresistencia la pioglitazona es un fármaco que contribuye a la mejoría del perfil lipídico. De hecho se ha comprobado su beneficio en pacientes con HFC y sin diabetes mellitus donde demostraron un aumento significativo de cHDL y de adiponectina, un descenso significativo de insulinemia,



aumento significativo en la disposición de glucosa corporal total y el uso de glucosa por el miocardio, así como mejora significativa del flujo sanguíneo miocárdico en reposo tras 12 semanas (88).

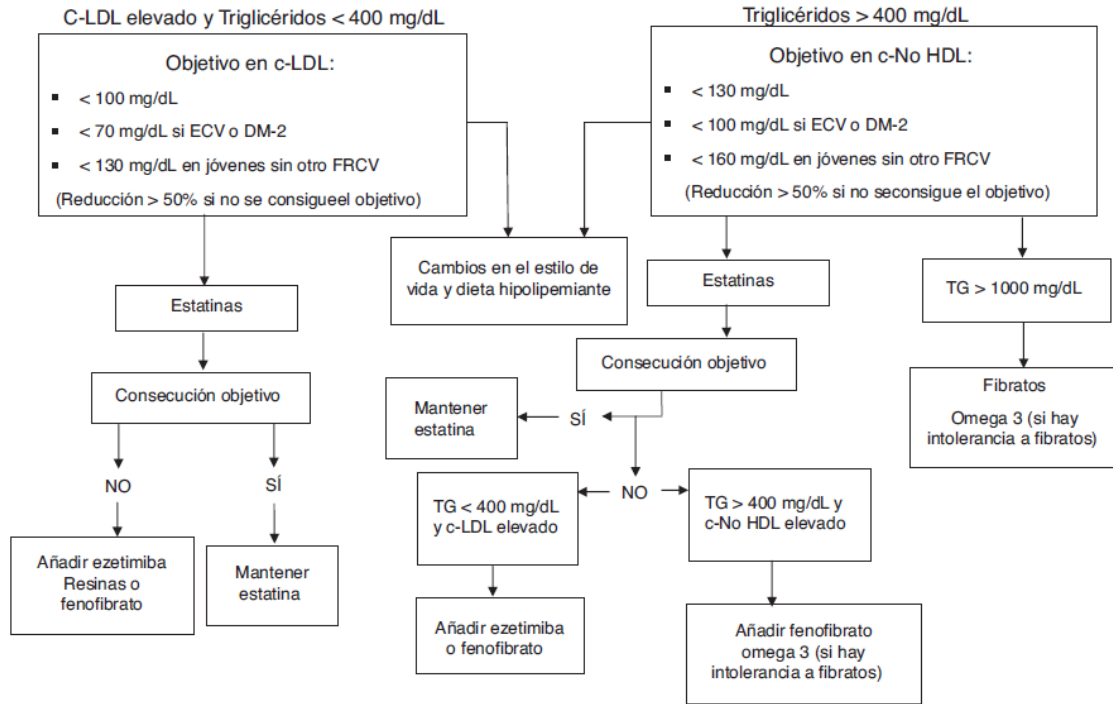


Gráfico 2. Algoritmo terapéutico recomendado en la HFC. (Mata y cols.(63))

## **2. RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA HFC**

El término HFC fue utilizado por primera vez en 1973 para describir un patrón mixto de alteraciones lipídicas en 47 familias de Seattle con historia de infarto de miocardio (1). Desde entonces, varios estudios han confirmado el riesgo elevado de enfermedad cardiovascular en los pacientes con HFC (78),(3),(66),(89). Un resumen de las evidencias se muestra en gráfico 3.

### **2.1 Enfermedad cardiovascular clínica**

El infarto agudo de miocardio (IAM) en sujetos muy jóvenes (< 40 años) es una enfermedad rara con un pronóstico extremadamente desfavorable. Menos del 5% de pacientes con IAM son menores de 40 años de edad, un 10% de los cuales desarrollarán insuficiencia cardíaca, un 15% sufrirá un reinfarcto, un 20% recibirá una cirugía de bypass coronario, y un 26% morirá en los 15 años siguientes a su primer infarto (90). El perfil de factores de riesgo típico de los pacientes con infarto muy jóvenes tiene algunos aspectos particulares incluyendo altas tasas de tabaquismo, historias familiares más extensas de enfermedad arterial coronaria y un fenotipo lipídico caracterizado por un predominio de la elevación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (91),(92), (93), (94), (95), (96). Un 7% de los pacientes jóvenes con infarto de menos de 45 años de edad tienen el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar (97), mientras que la prevalencia de la HFC en los supervivientes de IAM de menos de 60 años de edad es del 11-14% (1), (98).

En un estudio comparativo con sujetos con hipercolesterolemia familiar heterocigota que incluía más de 700 pacientes con HFC ambos grupos de pacientes mostraban una prevalencia media similar de EAC (16.7 vs. 15.3%) sin diferencias significativas (99) .

En un estudio realizado en 102 supervivientes de IAM consecutivos de edad igual o inferior a 40 años, comparados con 200 controles hospitalarios sin enfermedad arterial coronaria (3), el 38% de los pacientes con IAM y un 2.5% de los pacientes controles tenían el fenotipo de HFC. De los 38 pacientes con IAM e HFC se realizó el estudio familiar en 21 de ellos siendo positivo en el 76%. El riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica en estos sujetos es el doble que los familiares no afectados según algunos estudios (4). En personas que sobrevivieron a un IAM con una edad  $\leq$  40 años, el fenotipo de HFC se asoció con un riesgo ajustado de IAM 24 veces más elevado en relación a los controles (3). En un estudio prospectivo (66) se evaluó el riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) en familias con HFC o hipertrigliceridemia familiar a partir de los datos de historiales médicos de 685 miembros de 101 familias incluidas en dos estudios realizados a inicios de la década de 1970s. Incluyeron los familiares de primer grado de los probandos y los conyuges como grupo control. Comparados con el grupo control de cónyuges, el riesgo de mortalidad por ECV a los 20 años estaba aumentado entre los hermanos y la descendencia en la HFC (riesgo relativo 1.7)

tras ajuste por las covariantes basales. En este estudio la incidencia de mortalidad cardiovascular fue del 14.9%, superior a la hallada en otros estudios, lo cual puede ser explicado por el mayor tiempo de seguimiento y la ausencia de medicaciones hipolipemiantes efectivas en los años 70.

Estudios más recientes han demostrado un mayor riesgo en los familiares de 1º y 2º grado de los pacientes con HFC con una disminución marcada de la supervivencia libre de EAC y una odds ratio para EAC de 5.1 (100) en relación a sus conyuges.

## **2.2 Enfermedad aterosclerótica subclínica**

Numerosos estudios han obtenido datos que relacionan la HFC con aterosclerosis subclínica y disfunción del endotelio vascular.

El aumento del grosor de la íntima media carotídea (IMT) es un marcador de aterosclerosis subclínica ampliamente utilizado y diferentes estudios han vinculado la HFC con alteraciones de la IMT y disfunción del endotelio.

Los resultados de los estudios sugieren una aparición precoz de las lesiones en la vida de los individuos con esta dislipemia. En niños con HFC se ha evidenciado un mayor engrosamiento de la IMT carotídea y niveles de P-selectina mayores a los niños sin la dislipemia (101).

En pacientes con HFC y sin manifestaciones clínicas de aterosclerosis se halló un aumento de la IMT de las arterias carótidas comunes que correspondía aproximadamente a 7 años de aumento de IMT fisiológico en exceso respecto a la media de los controles sanos (102). Otros autores han hallado respecto a los controles un mayor IMT carotídeo y una diferencia media ajustada en IMT de la carótida común de 0.08 mm, correspondiente a aproximadamente 16 años de aumento de IMT fisiológico (103).

El estudio intravascular arterial mediante ecografía ha revelado también en los sujetos asintomáticos con esta enfermedad una mayor extensión de la placa aterosclerótica coronaria (104).

La rigidez arterial y la prevalencia de placas ateroscleróticas mayores era superior en los pacientes con HFC afectados respecto a los familiares normolipémicos y en éstos respecto a los cónyuges. La edad y el hecho de ser familiar de HFC eran determinantes significativos e independientes para la rigidez arterial (105). Confirmando estos hallazgos otro estudio halló menor distensibilidad y diámetro carotídeos en los individuos con HFC en relación a los controles y ambos parámetros se correlacionaron con el hecho de tener la enfermedad (106). En un estudio con población multiétnica sin ECV clínica, los individuos con HFC tenían un riesgo relativo aumentado para CAC (calcio arterial coronario) prevalente respecto a los normolipémicos de 1.22 (107).

Sin embargo, otros estudios no han revelado diferencias en el IMT carotídeo medio entre miembros asintomáticos de familias con la enfermedad afectados y no afectados (108) (109) o estas no han

sido relevantes (110). Se ha propuesto que detrás de las diferencias de resultados en los estudios se hallen la heterogeneidad fenotípica de las poblaciones estudiadas y la menor probabilidad de diferencias en la comparación con familiares no afectados que si se usa una población sana como control.

Los miembros de familias con HFC asintomáticos han mostrado signos de disfunción del endotelio reflejados en una menor dilatación de la arteria braquial mediada por flujo (FMD), niveles más elevados de factor de von Willebrand y además en los hiperlipémicos de PAI-1 y moléculas vaso adhesivas (VCAM-1, ICAM-1) (111). En los familiares de primer grado normolipémicos de pacientes con HFC también se han hallado signos de afectación de la función endotelial (FMD) (112) (113). Otros hallazgos relacionados han sido una mayor presión de onda de pulso (114).

En el gráfico 3 se resumen los datos disponibles de afectación cardiovascular en la HFC.

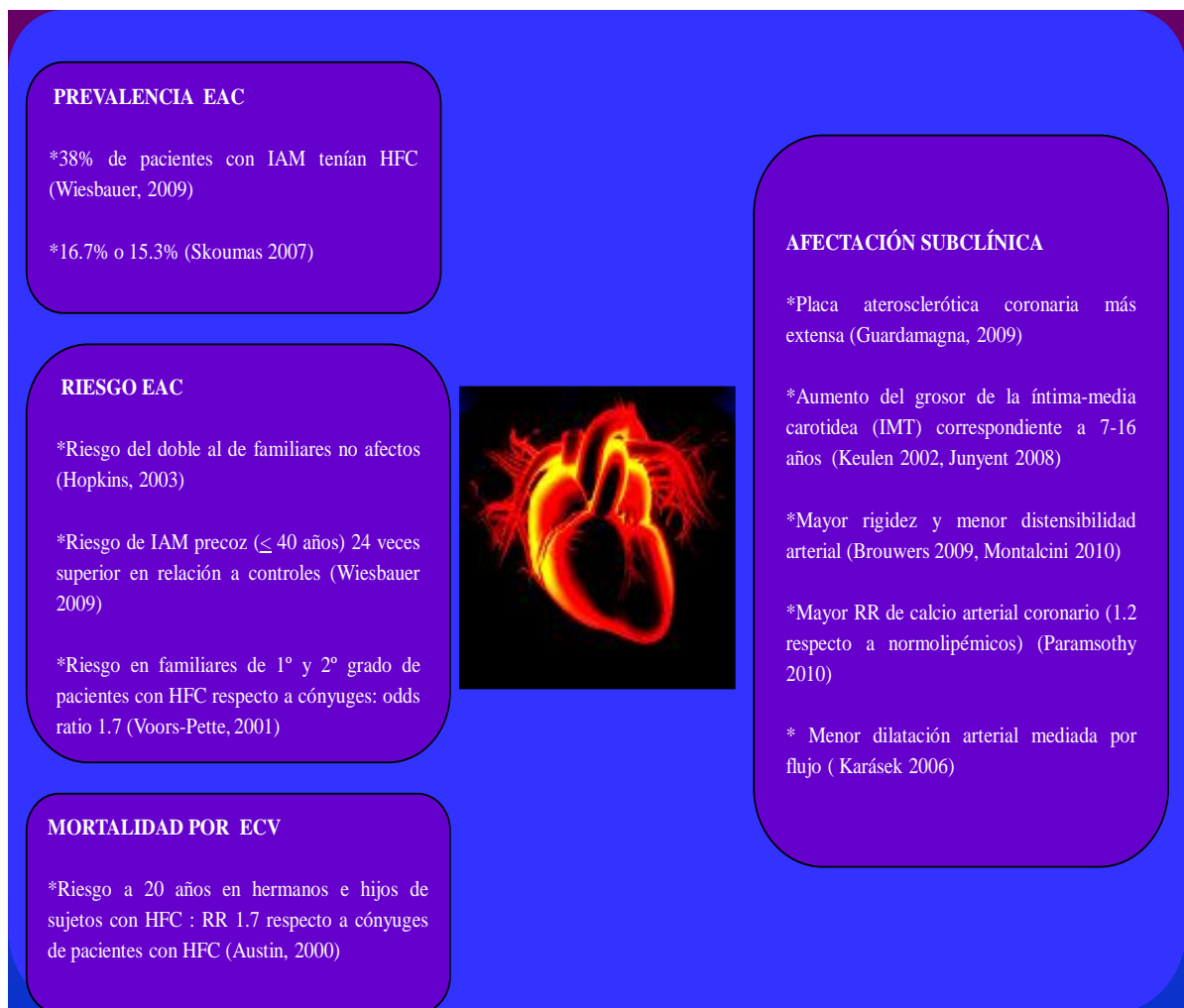


Gráfico 3. Afectación cardiovascular en la HFC

### 2.3 Asociación de los parámetros lipídicos con la enfermedad cardiovascular

No solo el status de tener la enfermedad sino también sus alteraciones lipídicas, en especial la apo B, se han correlacionado con las lesiones arteriales y del endotelio en esta entidad.

Así, han resultado predictores significativos del mayor grosor de la íntima media carotídea la apo B (102) (115), el cociente TG/cVLDL (115), el menor tamaño de las LDL (las cuales presentaban también una menor fase de latencia de oxidación) (109), el colesterol no HDL (116), la ratio apoB/apoA-I (103) y la ratio de colesterol total/cHDL (103). La menor distensibilidad arterial se correlacionó con los triglicéridos (106).

Del mismo modo y en relación a una mayor extensión de la placa aterosclerótica han resultado ser predictores fuertes el cHDL y el cociente colesterol total/cHDL (104) así como el cLDL (105).

Niveles plasmáticos del colesterol de las lipoproteínas remanentes (RLP-C) superiores al percentil 90 predijeron ECV prevalente en los sujetos con HFC pero no aportaron información adicional a la proporcionada por el colesterol no HDL (117). También las concentraciones de Lp (a) han mostrado valor predictivo independiente de EAC en los varones con esta enfermedad (OR=1.09 por 1-mg/dL de aumento) (89).

Otros factores de riesgo cardiovascular clásicos como la edad (102), (105), la presión arterial sistólica o la glucemia en ayunas (103), así como factores asociados con frecuencia a la HFC como la insulinoresistencia (113) o la obesidad abdominal (116) (115) han demostrado contribuir a la aparición de estas alteraciones.

Algunos autores no han encontrado contribución significativa de las alteraciones lipoproteicas en la enfermedad con el incremento de la aterosclerosis carotídea reflejado por un aumento del grosor de la IMT. Entre las lipoproteínas, solo el VLDL y quilomicrones aumentaron la predicción de IMT en un 0.8% en un estudio (118).

Un fenotipo lipídico mixto (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia) se ha asociado a una reducción de la reserva de flujo coronario durante la hiperemia (119).

Los datos sobre los efectos de las alteraciones metabólicas en la incidencia de episodios cardiovasculares mayores (infarto de miocardio no fatal y muerte cardiovascular) en pacientes con HFC son limitados.

En relación a eventos cardiovasculares, en un estudio de seguimiento retrospectivo durante 3 ó más años de más de 600 sujetos con HFC, un 5.9% de ellos presentaron IAM y/o muerte de origen cardiovascular y en ellos las concentraciones de cHDL eran significativamente menores (77). En el estudio de Austin y cols. (66), los triglicéridos basales no se asociaron significativamente en los familiares de HFC con el riesgo aumentado de mortalidad por ECV independientemente del colesterol total tras el ajuste por las covariantes basales.

La diabetes y el metabolismo anormal de la glucosa son determinantes de la enfermedad arterial coronaria prevalente en los pacientes con HFC (99), (8), (89). El papel del síndrome metabólico en el pronóstico cardiovascular de estos individuos parece especialmente relevante y varios estudios así lo han reseñado (4). Los sujetos con síndrome metabólico tienen un riesgo muy elevado de EAC precoz pero la presencia de HFC en ellos contribuye a aumentar en un 10-20% adicional dicho riesgo (78). Se ha descrito en series limitadas una mayor presencia de síndrome metabólico en los sujetos con HFC supervivientes de IAM que en aquellos que no lo habían tenido o en los controles (120). El tejido adiposo visceral aumentado y la insulinosensibilidad, así como mediadores como el upstream stimulatory factor protein 1, pueden contribuir como un sustrato patofisiológico que conecten estos factores de riesgo cardiometabólico y el riesgo cardiovascular (121),(122) ,(123) (124). También se ha planteado que los elevados niveles de FABP4 (proteína 4 transportadora de ácidos grasos) derivada de los adipocitos relacionada con el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, pueda tener un papel en la elevación del riesgo cardiovascular en las personas con HFC y síndrome metabólico (125), (126).

#### **2.4 Genética de la HFC y riesgo cardiovascular**

El upstream transcription factor 1 (USF1) es uno de los genes de los que se han hallado más evidencias de vinculación con la hiperlipemia familiar combinada.

Algunos de los estudios de los polimorfismos de este gen han relacionado ciertas variantes genóticas con mayor afectación del IMT y placas ateroscleróticas más avanzadas y calcificadas (127), (128), mientras otras parecen asociarse a una disminución del riesgo de aterosclerosis subclínica valorada por el calcio arterial coronario (129). La extrapolación de estos datos a población con HFC es aún incierta y los datos son escasos.

Como describiremos a continuación, el papel de la inflamación en el desarrollo del proceso aterosclerótico es fundamental y aún son escasos los datos referentes a la inflamación en la HFC, si bien su presencia en esta dislipemia debería tener un rol significativo en su elevado riesgo cardiovascular.

### **3. ATEROSCLEROSIS E INFLAMACIÓN. POTENCIAL CONTRIBUCIÓN EN LA HFC.**

La aterosclerosis está reconocida como una enfermedad inflamatoria crónica causada por factores vasculares y extravasculares (130),(131). Esta inflamación crónica de la pared arterial ocurre principalmente en zonas de flujo laminar alterado como las zonas de ramificación (132). Es un proceso lento y progresivo que da lugar a la aparición de lesiones en las paredes de las arterias con estrechamiento de su luz y finalmente eventos cardiovasculares siendo el más frecuente de ellos la enfermedad arterial coronaria (EAC).

Inicialmente una serie de estímulos activadores como el tabaco, la hipertensión, la dieta no saludable, la insulinoresistencia, la obesidad o la inflamación dan lugar en el endotelio a alteraciones de su estructura y función, como la ausencia de una capa de elastina luminal confluyente y la exposición de los proteoglicanos (133). Estas alteraciones permiten el acúmulo subendotelial de LDL y la expresión de moléculas de adhesión que reclutan selectivamente varias clases de leucocitos, entre ellas la molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1) (134),(135).

La aterosclerosis puede ser promovida por niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que transportan colesterol y apo B100 (136). La apoB100 de la LDL se une a los proteoglicanos de la matriz extracelular cargada negativamente favoreciendo la retención de las partículas de LDL en la íntima arterial, donde son susceptibles a sufrir modificaciones oxidativas por las especies reactivas del oxígeno (ROS) o enzimas como la mieloperoxidasa o las hidrogenasas liberadas por las células inflamatorias. Las formas oxidadas de las LDLs (LDL ox) y los lípidos inducen la expresión de moléculas de adhesión y la secreción de quimioquinas por las células endoteliales. Estas quimioquinas en conjunción con las producidas por las plaquetas dan lugar a una infiltración de la íntima por células del sistema inmune (neutrófilos, monocitos, células T, células B, células dendríticas y mastocitos) (137). Este proceso de atracción y reclutamiento de los leucocitos controlado por las quimioquinas comporta una movilización de los mismos mediante una secuencia de rodamiento, adhesión firme, migración lateral y diapédesis transendotelial. El reclutamiento leucocitario involucra subpoblaciones específicas en respuesta a combinaciones concretas de quimioquinas y de la afinidad de los proteoglicanos por las mismas en las zonas de inflamación (138). La unión de los monocitos sanguíneos inflamatorios al endotelio disfuncional tiene lugar debido a la expresión anómala por éste de moléculas de adhesión en respuesta a citoquinas proinflamatorias, angiotensina II y lipoproteínas oxidadas. Tras la adhesión monocitaria al endotelio activado, las quimioquinas facilitan su entrada en la íntima arterial. La proteína -1

quimiotáctica de los monocitos (MCP-1), interactúa con el receptor de quimioquinas del monocito CCR2, y recluta estas células hacia el endotelio arterial facilitando su entrada entre el mismo mediante diapédesis (139), (140). Una vez en la íntima, se produce la maduración de monocitos a macrófagos. Los macrófagos expresan receptores basureros o scavenger que permiten que capturen las lipoproteínas modificadas. La expresión de los receptores scavenger por los macrófagos es inducida por el aumento en las lesiones ateroscleróticas del factor estimulador de las colonias de macrófagos el cual es fundamental en la maduración del monocito a macrófago en la íntima (141), (142). Los macrófagos adquieren un aspecto engrosado fruto de la captación de las partículas lipídicas convirtiéndose en las células espumosas de las lesiones ateroscleróticas.

La cascada inflamatoria se mantiene y se va amplificando mediante la proliferación de macrófagos en la íntima, la liberación de factores de crecimiento y citoquinas, del factor tisular procoagulante (TF) y de metaloproteinasas (MPPs) capaces de destruir la matriz extracelular arterial. (130),(143) (144),(145) .

Las estrías grasas precoces son lesiones donde se hallan células espumosas y células linfocitarias T. El acúmulo posterior sucesivo de células apoptóticas, detritus y cristales de colesterol forman un núcleo necrótico. La evolución de estas lesiones conduce a la aparición de placas fibroadenomatosas. Estas placas poseen como cubierta una cápsula fibrosa compuesta de colágeno y células musculares lisas (CML), las cuales son reemplazadas por macrófagos en las adelgazadas cápsulas inflamadas que son proclives a la ruptura. El núcleo de ateroma está constituido por células espumosas y lípidos extracelulares envueltos por células musculares lisas y una matriz de colágeno. Las zonas de la placa con mayor propensión a la ruptura, las llamadas “regiones hombro de la lesión”, tienen un alto número de macrófagos activados y están muy infiltradas por células T y mastocitos, los cuales producen enzimas y mediadores proinflamatorios que contribuyen a la inflamación de la adventicia en las placas avanzadas (146). La inflamación regula la fragilidad de la cápsula fibrosa y el potencial trombogénico de la placa (130),(143),(144),(145). La ruptura de la placa libera moléculas de adhesión y factores solubles, como los dímeros-D, el factor de von Willebrand y el inhibidor-1 del activador del plasminógeno que tienen un papel importante en la formación del trombo. La trombosis subsecuente a la fractura de la cápsula fibrosa de la placa desencadena los eventos vasculares como el síndrome coronario agudo, el infarto de miocardio fatal o el accidente cerebrovascular (147), (148).

En el gráfico 4 se esquematizan las diferentes fases y actores del proceso aterosclerótico según lo que hemos detallado anteriormente.



Por tanto, en la aterosclerosis participan subpoblaciones celulares sanguíneas, factores lipídicos, citoquinas inflamatorias y quimioquinas contribuyendo todos ellos al desarrollo de las lesiones y los eventos vasculares subsecuentes.

Seguidamente se describirán evidencias sobre el papel de cada uno de ellos en dicho proceso.

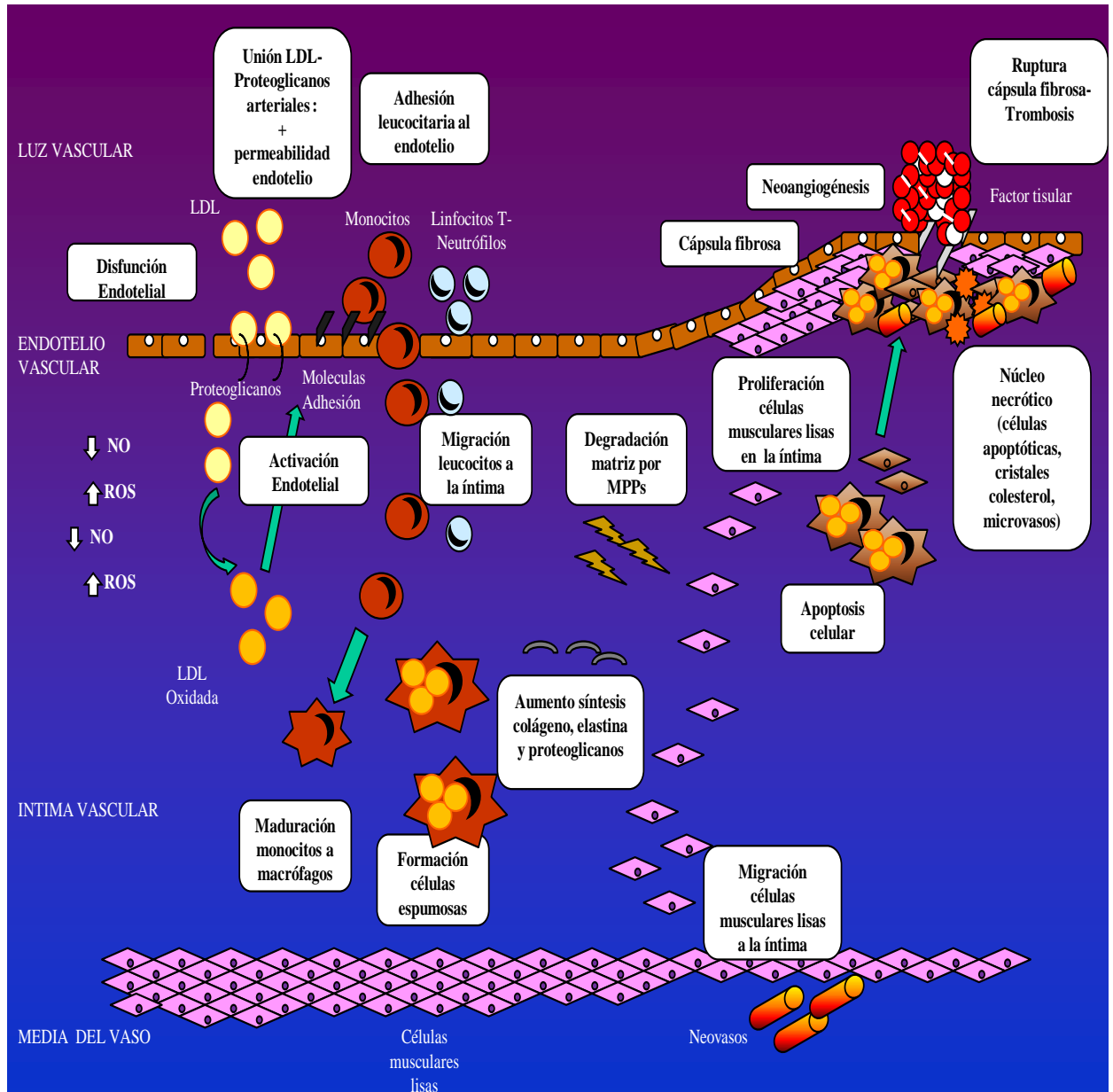


Gráfico 4. Esquema de las fases de la aterosclerosis según lo explicado en el texto. NO: óxido nítrico ROS:especies reactivas del oxígeno

### 3.1 Alteraciones lipídicas y aterosclerosis

Como hemos mencionado previamente en la HFC las alteraciones bioquímicas más frecuentemente halladas son un aumento de la concentración de los triglicéridos, del colesterol LDL y de la apolipoproteína B, así como una elevada prevalencia de partículas LDL pequeñas y densas (20).

Algunos pacientes pueden presentar un descenso de los niveles plasmáticos de colesterol HDL, a menudo inversamente correlacionados con los niveles de TG en plasma (21). A continuación resumimos la amplia información que relaciona estas alteraciones con el desarrollo de la arteriosclerosis.

### **Concentración y modificaciones de las LDL**

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) representan el transportador principal del colesterol en humanos hacia los tejidos periféricos. Una vez allí, se internalizan a través del receptor de LDL, el cual juega un papel clave en la regulación de las concentraciones en plasma de esta lipoproteína (149). Los resultados de los estudios ofrecen información consistente sobre la asociación de concentraciones aumentadas de colesterol LDL con un riesgo aumentado de infarto de miocardio y mortalidad de origen vascular (150). Esta relación es mayor cuando la exposición es precoz y prolongada a niveles elevados de colesterol LDL como se puede deducir de los estudios en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota y homocigota, que pueden presentar enfermedad cardiovascular a partir de la 3ª y 4ª décadas de vida y antes de la segunda década de la vida, respectivamente (151).

Múltiples estudios clínicos y con diferentes medidas terapéuticas han demostrado una sólida asociación entre la reducción del colesterol LDL con una disminución de las tasas de eventos vasculares. En este sentido, un meta-análisis de 22 estudios clínicos de estatinas versus controles (n=134537) y 5 ensayos clínicos de terapia con estatinas de un modo más intensivo versus menos intensivo (n=39612) reveló una reducción en 1 año de alrededor de 1,1 mmol/L en los estudios de estatinas vs control y alrededor de 0,5 mmol/L en los de terapia más intensiva vs menos intensiva. Por cada reducción de 1.0 mmol/l de cLDL hubo una reducción del riesgo de eventos coronarios mayores de un 24% (RR 0.76). (152). Asimismo un estudio aleatorizado con evolocumab, un inhibidor de PCSK9, incluyendo más de 27000 pacientes con enfermedad cardiovascular aterosclerótica y cLDL  $\geq$  70 mg/dl bajo tratamiento con estatinas disminuyó en un 59% los niveles de cLDL a las 48 semanas y redujo significativamente el riesgo cardiovascular (valorado como la conjunción de muerte de origen cardiovascular, IAM, AVC, ingreso hospitalario por angina inestable o revascularización coronaria) (153).

Del mismo modo, la adición de ezetimibe a la terapia con simvastatina en pacientes con hospitalización reciente por síndrome coronario agudo y cLDL  $\geq$  50 mg/dl produjo una disminución del cLDL superior a la monoterapia con simvastatina (0,4 mmol/l) y una menor tasa de eventos cardiovasculares a 7 años (objetivo compuesto de muerte de origen cardiovascular, IAM no mortal, angina inestable que precisó ingreso hospitalario, revascularización coronaria precoz o AVC no mortal) (154).

Además de las concentraciones del cLDL, se conocen diversas modificaciones en las lipoproteínas LDL que comportan un aumento del riesgo de la aterosclerosis. Entre ellas destacan las referentes a su distribución fenotípica según tamaño y densidad y aquellas que implican cambios oxidativos y en la carga molecular.

### **Partículas de LDL pequeñas y densas**

Se han identificado hasta siete subespecies distintas de LDL dependiendo de sus densidades, las cuales difieren en su comportamiento metabólico y papeles patológicos (155),(156),(157) . Frecuentemente se definen dos fenotipos de partículas LDL – el patrón A con LDL > 25.5 nm (grande y flotante) y el patrón B con LDL  $\leq$  25.5 nm (pequeña y densa) (158). La prevalencia del patrón B es del 30% en los hombres adultos y 15-25% en las mujeres postmenopáusicas (159) (160). Las partículas de LDL pequeñas y densas tiene una estrecha relación con las concentraciones de triglicéridos y son el producto de la remodelación intravascular de las partículas de VLDL ricas en triglicéridos tras la interacción primariamente con la lipoproteinlipasa, lipasa hepática y la proteína transferidora de ésteres de colesterol. El intercambio de ésteres de colesterol/triglicéridos entre la VLDL y la LDL mediado por la proteína transferidora de ésteres de colesterol conjuntamente con la hidrólisis mediada por la lipasa hepática da lugar a la transformación de la LDL en LDL pequeña y densa (155),(158).

Aunque no en todos (161) (162), son muchos los estudios prospectivos que han demostrado que las partículas de LDL pequeñas son el mejor predictor de de enfermedad cardiovascular (158),(163) (164),(165),(166). En el estudio EPIC-Norfolk, a pesar de que ha afirmado que tras el ajuste por los TGs y cHDL, la estimación de las LDL pequeñas y densas no proporciona ninguna ventaja adicional en la valoración del riesgo, ha demostrado claramente que la LDL pequeña está asociada a tasas de supervivencia reducidas (161). En el Quebec Cardiovascular Study con un seguimiento durante 13 años de 2072 hombres de edades entre 46-75 años, se concluyó que la LDL pequeña es un predictor fuerte e independiente de enfermedad coronaria, en particular para el seguimiento a corto plazo (167).

La aterogenicidad de la LDL pequeña y densa se ha atribuido a su alta oxidabilidad, por su bajo contenido en colesterol y alto en Apo B y ácidos grasos poliinsaturados (168),(169),(170),(171), su deplección de vitamina E, su aclaramiento más lento y un mayor período de persistencia en plasma (172),(173). La mayor unión de las LDL pequeña y densa a los proteoglicanos arteriales así como la mayor permeabilidad endotelial a estas partículas, favorecen la formación de células espumosas. Finalmente, estas partículas tienen mayor susceptibilidad a la glicación (174) lo que reduce su aclaramiento y un aumento de sus propiedades de agregación y unión a los proteoglicanos arteriales (175), (174).

## **LDL oxidada**

Las modificaciones oxidativas en las lipoproteínas, especialmente en las LDL, se han asociado con aterosclerosis y muchos estudios han detectado partículas LDL modificadas oxidativamente en humanos (176), (177), (168),(178) .

La LDL oxidada (LDLOx) resulta de la exposición de la LDL a un número de agentes oxidantes (como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno presentes en las células (especialmente en los macrófagos presentes en la pared arterial)), enzimas (como las lipoxigenasas), y productos de la mieloperoxidasa. Esta exposición puede conducir a una deplección de los componentes antioxidantes y más tarde a la oxidación de los lípidos y proteínas que componen las partículas de LDL. La oxidación de la LDL es un proceso progresivo que conduce a la formación de LDL desde levemente hasta extensamente oxidada. La LDLOx contiene varios lípidos oxidados tóxicos en diferentes proporciones (179). Los componentes tóxicos de la LDLOx puede incluir aldehídos, oxisteroles, peróxidos lipídicos y otros.

Los efectos de la oxidación de las LDL incluyen la disminución de afinidad por el receptor de la LDL y aumento de la afinidad por los receptores scavenger como el CD36 y el LOX-1 (receptor-1 de la lipoproteína de baja densidad oxidada lectin like) (179), la disfunción endotelial a través de diversos mecanismos (180),(181),(182),(183),(184), la proliferación y apoptosis de las células musculares lisas (185),(186) ,efectos sobre los macrófagos y las células dendríticas (187),(188) , favorecen la activación plaquetar (189),(190) y efectos directos e indirectos sobre las stem cells endoteliales y de las células musculares lisas (191),(192),(193),(194) .

Diferentes estudios han hallado incremento de sus niveles en la enfermedad arterial coronaria y tras IAM (195),(196).

## **LDL electronegativa (LDL (-))**

La LDL (-) es una subfracción modificada de la LDL cuya concentración en plasma es menor del 10% del total de LDL en sujetos sanos, y mayor del 10% del total de la LDL en pacientes con riesgo cardiovascular elevado (197),(198),(199),(200). Los mecanismos que explican el aumento de la generación de LDL (-) en individuos con enfermedad coronaria no están completamente claros, pero la diferencias en las propiedades físicoquímicas, composición, y parámetros oxidativos entre la LDL nativa y la electronegativa podrían explicar las acciones aterogénicas e inflamatorias de esta partícula. Las características físicas y biológicas de la LDL (-) consisten en glicosilación no enzimática, contenido y actividad aumentadas de acetilhidrolasa del factor activador de las plaquetas (PAF-AH) y la fosfolipasa A2 (PLA2), enriquecimiento en NEFA, unión cruzada entre

hemoglobina y ApoB100, y aumento en la ApoC-III y ApoE en la LDL (201). La glicosilación y la oxidación de la LDL reducen su afinidad por el receptor de LDL, conduciendo a un catabolismo hepático reducido, aumento en el contenido de ésteres de colesterol en los macrófagos, y función endotelial alterada (202). Estos eventos parecen estar muy estrechamente interrelacionados.

### **Concentraciones y modificaciones de las HDL**

Las lipoproteínas de alta densidad (HDLs) son partículas que, durante su estancia en plasma, intercambian lípidos y apolipoproteínas con los tejidos y con otras lipoproteínas sufriendo un proceso de remodelación como resultado de ello y de su interacción con transportadores lipídicos y enzimas lipolíticos. Esto da lugar a un conjunto heterogéneo de partículas en su estructura y función (203).

Se pueden clasificar según:

1-Principal contenido apolipoproteico: partículas que contienen solo apolipoproteína A-I (apoA-I, LpA-I) o aquellas que tienen tanto apoA-I como apoA-II (LpAI/A-II).

2- Densidad: HDL2 grandes y flotantes y HDL3 pequeñas y densas, las cuales pueden ser además subfraccionadas en 5 subpoblaciones diferentes (HDL2a, HDL2b, HDL3a, HDL3b y HDL3c).

3-Movilidad electroforética en gel de agarosa (según carga de superficie): partículas pre- $\beta$  (incluyen una única molécula de apo A-I pobre en lípidos, una molécula única de apo A-I en complejo con un pequeño número de moléculas de fosfolípidos, o partículas discoidales que contienen 2 ó 3 moléculas de apo A-I en complejo con múltiples moléculas de fosfolípidos más una pequeña cantidad de colesterol no esterificado) , partículas  $\alpha$  (equivalen a las partículas de HDL esféricas predominantes a nivel plasmático) y partículas pre- $\alpha$  (204) .

Las HDL ejercen varias funciones bien documentadas con la capacidad de proteger contra la enfermedad cardiovascular: promueven el eflujo de colesterol desde los macrófagos en la pared arterial y desde otras células (205), tienen capacidad para proteger a la LDL de la oxidación de modo dependiente e independiente de su actividad paraoxonasa-1 asociada (206),(207),(208),(209) (210), tienen actividad antiinflamatoria vascular (206), poseen propiedades antitrombóticas (211), mejoran la disfunción del endotelio y contribuyen a su reparación (212),(213), aumentan la angiogenesis (214), suprimen la producción y movilización de monocitos y neutrófilos desde la médula ósea (215) e inhiben la apoptosis celular endotelial y de los macrófagos (216),(217) .

A lo largo de los años las evidencias científicas relacionando el riesgo cardiovascular con las lipoproteínas de alta densidad (HDL) han resultado en cierto modo desconcertantes.

Por un lado, hay evidencias contrastadas de que la enfermedad cardiovascular se relaciona de modo inverso con las concentraciones plasmáticas de las HDLs (218), (219) y del valor predictivo

inverso e independiente de sus niveles y de los de su apolipoproteína principal, la apo A-I, respecto a la aparición de eventos cardiovasculares (220),(221),(222), incluso en presencia de concentraciones muy bajas de cLDL (218).

Estas evidencias se han corroborado en modelos animales donde se disminuye la aparición y progresión de la aterosclerosis al lograr un incremento de los niveles plasmáticos de HDL (223) (224). Además los estudios in vitro en humanos han logrado una regresión de la aterosclerosis coronaria mediante infusión de complejos de apo A-I y fosfolípidos o HDLs reconstituidas (rHDLs) (225),(226) .

Sin embargo, los resultados de los estudios de intervención en humanos han sido desalentadores al no lograr efectos beneficiosos a nivel preventivo cardiovascular cuando se aumentaba el nivel de colesterol HDL mediante el tratamiento con inhibidores de la proteína transferidora del ester de colesterol (CETP) o con niacina (227),(228),(229) , y en un caso, el tratamiento causó perjuicio (227). Las explicaciones que se han planteado para justificar esta ausencia de resultados favorables van desde los posibles efectos adversos de los fármacos empleados (227),(230) a la funcionalidad comprometida de las HDLs en algunas de las poblaciones estudiadas, como en aquellos con enfermedad coronaria aguda (231),(229) . Probablemente este segundo aspecto ha de tener más peso en la falta de obtención de resultados positivos en dichos estudios. Cada vez hay evidencias más sólidas de la importancia de mantener unas propiedades intactas en las HDLs a la hora de poder desarrollar su efecto protector a nivel cardiovascular. El compromiso y deterioro de estas funciones en diferentes enfermedades (232),(233) limita la capacidad protectora de las HDLs. Esta disfuncionalidad de la partícula coexiste con frecuencia con un desequilibrio en la distribución de sus subpoblaciones en diferentes procesos patológicos. Los cambios en la estructura y función de la partícula pueden afectar a su composición proteica y lipídica (234),(235),(236),(237) . Los hallazgos de los estudios sugieren que las partículas de HDL grandes están inversamente asociadas mientras que las partículas de HDL pequeñas están positivamente correlacionadas con la enfermedad cardiovascular (203).

Diferentes situaciones patológicas favorecedoras de procesos oxidativos y ateroscleróticos, como la dislipemia, la inflamación crónica o la diabetes, se acompañan de modificaciones estructurales de las HDLs que comportan no solo una reducción de su capacidad protectora sino que les confieren características proaterogénicas (238). Este hecho se ha comprobado en pacientes con síndrome metabólico que muestran compromiso de la actividad enzimática de las HDLs (239) y en pacientes con diabetes tipo 2 cuyas HDL3 tienen cambios en su composición relacionados con las concentraciones elevadas de glucosa y triglicéridos y con fenómenos oxidativos que disminuyen sus propiedades antioxidantes (240). En la hipercolesterolemia familiar la capacidad de eflujo de colesterol celular está disminuida en las HDL2 y en las HDL3 y el incremento en el contenido de triglicéridos de las HDL3 disminuye su actividad antiinflamatoria y sus propiedades de transporte

inverso del colesterol (241), (242) . El compromiso de estas funciones tiene importantes repercusiones a nivel cardiovascular. La capacidad de eflujo del colesterol de las HDLs es un predictor independiente de la incidencia de eventos cardiovasculares tras ajuste por concentraciones de HDLs (243).

### **Triglicéridos**

Las concentraciones elevadas de triglicéridos y de lipoproteínas remanentes tienen un papel determinante en la aparición de la aterosclerosis. Su implicación no solo está relacionada con su mayor presencia en plasma sino también con el tamaño de las lipoproteínas que las transportan. De este modo, a concentraciones de triglicéridos muy elevadas (>50 mmol/l) las lipoproteínas que las transportan son incapaces de poder penetrar en la íntima arterial por su gran tamaño mientras que su menor tamaño lo permite si los niveles plasmáticos de triglicéridos están leve o moderadamente incrementados (2-10 mmol/l) y de este modo pueden contribuir al proceso aterosclerótico (244), (245),(246) .

Se ha evidenciado una fuerte asociación del incremento progresivo de los triglicéridos no en ayunas con un riesgo aumentado de cardiopatía isquémica, infarto de miocardio, AVC isquémico y mortalidad por todas las causas (247),(248),(249).

Diferentes metaanálisis mostraron que las concentraciones de triglicéridos elevadas en ayuno y no ayuno estaban relacionadas con un riesgo aumentado de enfermedad coronaria, incluso tras el ajuste por las concentraciones de colesterol HDL (250),(251). Se comprobó tras un seguimiento de 27-30 años un aumento ajustado por edad del riesgo de cardiopatía isquémica entre 3-6 veces, de infarto de miocardio entre 5-17 veces, del AVC isquémico entre 3-5 veces y de la mortalidad por cualquier causa de 2-4 veces para concentraciones de triglicéridos superiores a 5 mmol/l vs inferiores a 1 mmol/l (247),(249).

No obstante, parece ser que su contribución a la cardiopatía isquémica se halla más en relación al contenido de colesterol que también transportan las lipoproteínas remanentes que al propio incremento de los triglicéridos vinculado a las mismas (252), (253),(254). Así, en el estudio Emerging Risk Factors Collaboration, que evaluaba más de 12000 eventos coronarios e incluía más de 30000 pacientes de estudios prospectivos prolongados, el riesgo elevado de cardiopatía isquémica en relación a los triglicéridos basales y no en ayunas se atenuaba tras el ajuste por el cHDL y se abolía si además ajustábamos por el colesterol no HDL (253), (222).

Los estudios con variantes genéticas que influyen en las concentraciones de colesterol remanente mostraron que el aumento en 1 mmol/l de los niveles de triglicéridos duplicaba el riesgo de mortalidad total y su reducción en el mismo grado reducía a la mitad dicho riesgo (255) mientras que un incremento de 1 mmol/l de colesterol remanente se asociaba a un riesgo de cardiopatía

isquémica 2.8 veces mayor y no atribuible a concentraciones bajas de cHDL (252). También hay evidencias que el aumento determinado genéticamente de las concentraciones de triglicéridos y colesterol remanente se vincula a mayor inflamación de bajo grado (256).

Los estudios clínicos de reducción de triglicéridos con fibratos han mostrado una disminución de los eventos cardiovasculares que adquiere más valor ante la ausencia de logro de beneficio cardiovascular en el incremento de cHDL obtenido con inhibidores de CETP que, al igual que los fibratos, aumentan los niveles de cHDL. En el estudio Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) la adición de fenofibrato a simvastatina en el grupo con triglicéridos basales en el tercil más alto redujo en un 31% el riesgo cardiovascular respecto a la monoterapia con simvastatina (253). Bezafibrato se asoció a una disminución del riesgo de infarto de miocardio fatal y no fatal (HR de 0,71 y 0,67, respectivamente) y una tendencia a menor mortalidad de origen cardíaco (HR 0,74) en pacientes con niveles de triglicéridos > 150 mg/dl, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico en el estudio BIP (Bezafibrate Infarction Prevention Study). La reducción de objetivos cardiovasculares (en un 39.5%) fue significativa en aquellos con concentraciones de triglicéridos superiores a 200 mg/dl (257),(258),(259). Cada incremento de 100 mg/dl en las concentraciones basales de triglicéridos comportaba un aumento del riesgo coronario del 14% en los varones con bajo cHDL y enfermedad cardiovascular en el estudio Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention (VA-HIT) y la terapia con gemfibrozilo redujo el riesgo de infarto de miocardio no fatal y el de muerte por cardiopatía isquémica en un 22% (260). En sujetos en prevención primaria en el Helsinki Heart Study (HHS) gemfibrozilo redujo en un 34% el riesgo de enfermedad cardiovascular tras 5 años y en un 24% tras 18 años beneficiándose más de ello aquellos con triglicéridos e IMC en el tercil más elevado los cuales disminuyeron en un 71% el riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular (261),(262). Por último, en un metaanálisis incluyendo más de 45000 pacientes la reducción de los triglicéridos con fibratos dio lugar a una reducción del riesgo relativo del 10 % para eventos cardiovasculares mayores y del 13% para eventos coronarios (263).

### **3.2 Subpoblaciones celulares y aterosclerosis**

Como hemos reseñado al explicar la fisiopatología del proceso aterosclerótico, diferentes subpoblaciones celulares participan en el mismo y contribuyen en conjunción a las alteraciones lipídicas al avance, la progresión y la complicación de las lesiones.

Diferentes autores han detallado y aportado evidencias sobre los efectos de dichas poblaciones celulares en el proceso. (264),(265),(266).



- Neutrófilos: son uno de los efectores mayores en las respuestas inmunes innatas. Contienen varios mediadores inflamatorios que son activados libremente. Especies reactivas del oxígeno (ROS), mieloperoxidasa (MPO) y metaloproteinasas de matriz (MMPs) participan en la degradación de la matriz extracelular y en la erosión de la placa.

- Monocitos: Los monocitos Ly6Chigh son proinflamatorios y son reclutados a la lesión y eficientemente diferenciados a macrófagos M1 y células espumosas. Los Ly6Clow o patrulladores son reclutados a las lesiones más lentamente y se diferencian a macrófagos M2 o células dendríticas. Los monocitos con una elevada expresión de PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1) podrían identificar una subpoblación proinflamatoria de estas células en humanos con un papel activo en las placas ateroscleróticas.

- Macrófagos: En ratones, los macrófagos M2 predominan en los estadios precoces de la aterosclerosis y se caracterizan por la secreción de IL-10 y acumulan pequeñas cantidades de lípidos. Los macrófagos M1 se hallan en las lesiones avanzadas donde acumulan una gran cantidad de lípidos, lo cual promueve su diferenciación a células espumosas. Los macrófagos M1 secretan TNF- $\alpha$ , IL-6 y metaloproteinasas, lo cual exacerba y desestabiliza el desarrollo de la lesión. En humanos, macrófagos M1 y M2 también se hallan en las lesiones, pero sus funciones en las placas ateroscleróticas no son conocidas.

- Mastocitos: están ampliamente distribuidos en las arterias y en las placas ateroscleróticas. Liberan mieloperoxidasa (MPO) e IL-8, las cuales pueden reclutar leucocitos, incluyendo neutrófilos, hacia la lesión.

- Células Natural Killer : pueden interactuar con las células presentadoras de antígenos y secretar grandes cantidades de interferón- $\gamma$  como respuesta al activarse.

- Células dendríticas: secretan IL-12 al interactuar con las células natural killer. Las interacciones entre las células dendríticas y las células natural killer inducen la producción de IL-12 por las células dendríticas y esta citoquina aumenta la secreción de interferon- $\gamma$  en las células T y en las células natural killer. En los macrófagos, el interferón  $\gamma$  induce la secreción de metaloproteinasas e inhibe la secreción de proteínas de matriz extracelular derivadas de las células musculares lisas lo cual induce una desestabilización de la placa aterosclerótica. Además, las células dendríticas secretan TNF- $\alpha$ , el cual induce un aumento en la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio.

- Linfocitos T: Son menos numerosos en las placas, parecen tener un efecto regulador decisivo en la instrucción de los monocitos efectores de la respuesta inmune en el proceso.

- Linfocitos B: Los linfocitos B parecen tener un efecto inhibitorio neto en la aterogénesis

- Plaquetas: Juegan un papel importante en el proceso hemostático y en la formación del trombo tras la lesión. Pueden regular las respuestas inflamatorias e inmunes a través de la secreción de mediadores inflamatorios que modulan el reclutamiento de leucocitos hacia las zonas inflamadas.

### **3.3 Citoquinas, quimioquinas y otros marcadores inflamatorios**

La inflamación tiene un papel importante en el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis así como en la ruptura de la placa (130),(131),(267),(268) y algunos estudios recientes han demostrado el papel de la inflamación como mediador del estadiaje de la enfermedad coronaria.

Los diferentes estadios de la aterogénesis pueden relacionarse con biomarcadores inflamatorios que son importantes para el diagnóstico clínico, tratamiento y pronóstico de los pacientes con EAC. Debido a que los factores de riesgo convencionales no explican los cambios en la aterosclerosis, se han focalizado los esfuerzos en desarrollar nuevos biomarcadores que identifiquen las placas vulnerables y la enfermedad cardiovascular (269),(270).

Se han estudiado y propuesto múltiples moléculas como potenciales biomarcadores de inflamación en aterosclerosis o enfermedad cardiovascular: proteína C reactiva, citoquinas (interleukinas (IL-1, IL-6, IL-10), proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ),...), moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM, selectinas P y E), receptor-1 de LDL oxidada lectin-like (LOX-1), fibrinógeno,...

A continuación repasaré los datos de biomarcadores destacables y que hemos determinado en el estudio que presentamos en esta tesis doctoral, así como las evidencias actuales que los conectan con la aterosclerosis.

#### **Proteína C reactiva (PCR)**

La proteína C reactiva (PCR) es un marcador inflamatorio que puede aumentar en varias situaciones patológicas, sintetizado principalmente en el hígado pero también es producido por los leucocitos y los adipocitos (271),(272) . Durante la infección o la necrosis tisular la PCR puede aumentar 50000 veces, pero también se considera como una variable independiente de futuros eventos cardiovasculares (273).

La PCR fomenta la presentación de antígenos y la fagocitosis uniéndose a la fosfocolina que se halla habitualmente en las membranas celulares y los polisacáridos en procariotas y hongos y uniéndose al complejo C1q del complemento y el factor H (274),(275) . Además se puede unir a la lipoproteína de baja densidad (LDL), y puede ser identificada en la placa (276) donde participa en procesos inflamatorios aterogénicos (277).

La PCR está elevada en los pacientes con síndromes coronarios agudos y crónicos en relación con la composición de la placa (278),(279) y está relacionada con las complicaciones de la insuficiencia cardíaca (280) . Niveles plasmáticos bajos de PCR indican un buen estado de salud (281), mientras que aumenta cuando el estilo de vida empeora. El MONICA Augsburg Study muestra que una dieta occidental deficiente en consumo de vegetales, frutas y fibra, uso extendido

de grasas saturadas, baja actividad física y obesidad, están asociados a niveles más elevados de PCR (282).

Así pues, incrementos en la concentración plasmática de la PCR refleja una elección de estilos de vida no saludable que conducen a un desequilibrio metabólico e inflamación. El estudio de una larga población ha revelado que un aumento de los niveles de PCR (>3 mg/l, niveles elevados) se asoció con la mortalidad de 22.962 sujetos (283). Se ha publicado que la PCR era un mejor biomarcador de enfermedades cardiovasculares que el colesterol LDL. Sin embargo, cuando se medían juntos, daban un mejor pronóstico detallado que medidos por separado (284). Estudios prospectivos a largo plazo documentaron una fuerte asociación entre el poder predictivo de la PCR y los riesgos de enfermedad arterial coronaria (285),(286). Algunas sociedades científicas internacionales han sugerido que la evaluación de la PCR en pacientes de “riesgo intermedio” podría representar un riesgo predictivo de un evento cardiovascular desde el 10% hasta cerca del 20% en los 10 años subsecuentes (287) y en base a ello han planteado que la evaluación de los niveles de PCR eran aceptables para los pacientes de riesgo intermedio (288),(289). Otro estudio que valoró sujetos de riesgo intermedio para un evento cardiovascular mostró que los valores de PCR y de fibrinógeno podrían ayudar a prevenir un evento adicional en un período de 10 años por cada 400-500 pacientes cribados. Los hallazgos de los estudios sugieren que la concentración de PCR puede reflejar la vulnerabilidad de la lesión ateromatosa y la perspectiva o posibilidad de ruptura de la placa (268),(290) .

El tratamiento con estatinas reduce los niveles tanto de cLDL como de PCR, y de modo concurrente hay una reducción del número de eventos cardiovasculares (291),(292),(293),(294). En el estudio CARE (Cholesterol and Recurrent Events), pravastatina redujo los niveles de PCR independientemente de la magnitud de la reducción del cLDL. (294).

### **Interleukina –6**

La IL-6 es una citoquina proinflamatoria producida por los macrófagos activados, las células endoteliales y las células musculares lisas vasculares y es capaz de promover la secreción de otras citoquinas. La IL-6 se produce en el tejido adiposo en respuesta a adipoquinas estableciendo un vínculo entre la obesidad y una inflamación crónica de bajo grado (295),(296).

IL-6 es una de las más prominentes citoquinas proinflamatorias. La IL-6 bien generada localmente por las células de la lesión aterosclerótica o liberada a la circulación por el tejido adiposo (297) (298),(299) puede ejercer efectos perjudiciales que aumentan la aterogénesis. IL-6 promueve la disfunción endotelial, la proliferación y migración de las células musculares lisas así como el reclutamiento y activación de células inflamatorias, perpetuando la inflamación vascular. La IL-6 afecta localmente la expresión de los receptores scavenger SR-A y CD36 (implicados en la

captación de la LDL modificada) y promueve así la formación de células espumosas derivadas de los macrófagos, claves en la formación de la lesión aterosclerótica precoz y avanzada (300),(301) (302) . A pesar de los hallazgos concluyentes proaterogénicos in vitro e in vivo, los resultados de estudios de aterosclerosis experimental permanecen bastante controvertidos (303),(304) ,(305) ,(306) . En conjunto, los estudios actuales indican que los niveles de IL-6 en un rango fisiológico son necesarios para mantener las respuestas inflamatorias así como para la regulación del metabolismo glucídico y lipídico (307),(308). Se puede especular que los efectos vasculares perjudiciales de la IL-6 sean principalmente mediados a través de la transeñalización IL-6 (309).

La IL-6 también ha sido reconocida como un predictor de enfermedad cardiovascular incluso tras haber ajustado por los factores de riesgo tradicionales y otros marcadores inflamatorios en un número considerable de estudios epidemiológicos que incluían tanto sujetos aparentemente sanos como pacientes (310),(311),(312),(313) .Así, en un estudio prospectivo a lo largo de 9 años en pacientes con 1 ó más factores de riesgo vascular, la elevación crónica de IL-6 se relacionó con la progresión de la aterosclerosis. Los niveles medios de IL-6 se asociaron significativamente a la progresión del grosor de la íntima-media máxima carotídea tras el ajuste por edad, sexo, factores de riesgo vascular tradicionales y el grosor basal de la íntima media carotídea (314) . En el Fragmin Study (FRISC-II), el incremento de IL-6 por encima de 5 ng/l se relacionó con una mortalidad de 6 a 12 meses sin relación con la troponina y la hs-PCR (315). Las concentraciones plasmáticas de IL-6 resultan ser un índice independiente efectivo de mortalidad aumentada en EAC inestable. Además, la intensidad de la inflamación de la placa y su vulnerabilidad parecen estar conectadas con los niveles plasmáticos de IL-6 (315).

En 2015 un metaanálisis que incluía 37 estudios donde participaban 14.832 individuos incluyendo sujetos sanos, con diversas enfermedades o con factores de riesgo cardiovascular corroboró estos datos concluyendo una correlación significativa de los niveles de IL-6 con el grosor de la íntima media en todos ellos ( coeficiente de correlación 0.336 en el metaanálisis global , 0.446 en individuos con alguna enfermedad, 0.478 en aquellos con enfermedad cardiovascular o enfermedad predisponente a ella, 0.327 en sujetos con enfermedad sin riesgo cardiovascular ; y 0.31 en sujetos reclutados en encuestas en la comunidad) (316) .

### **Interleukina-8**

Una amplia variedad de tipos celulares, incluyendo virtualmente todas las células nucleadas, son fuentes potenciales de IL-8 (317).Sin embargo, las principales fuentes celulares de IL-8 son típicamente los monocitos y los macrófagos. Es producida precozmente en la respuesta inflamatoria, pero permanece activa por un período prolongado de tiempo, incluso días y semanas. Esto contrasta con la mayoría de las citoquinas restantes, las cuales típicamente son fabricadas y

eliminadas en vivo en cuestión de horas (318). La IL-8 es muy sensible a oxidantes y los antioxidantes reducen sustancialmente su expresión genética (319).

Datos derivados de estudios in vitro y con modelos animales han identificado a la IL-8 en los sitios de lesión aterosclerótica vascular, mientras que otros han demostrado que la IL-8 juega un papel potencialmente en varios estadios de la aterosclerosis (320),(321),(322),(323),(324). En la placa aterosclerótica, los macrófagos (325) , las células endoteliales (326) y las células musculares lisas vasculares (327) son capaces de producirla inducidas por la LDL oxidada (328).

En un estudio realizado en 158 pacientes afectos de EAC estable identificada coronariográficamente, durante un período de seguimiento de 7 años el análisis multivariante de 10 citoquinas mostró a la IL-8 como el único marcador independiente para enfermedad cardiovasculares (329).

En el mayor estudio con casos-contróles, las concentraciones basales de IL-8 eran significativamente más elevadas en pacientes con EAC que en los que no lo tenían. No obstante, el ajuste por otros factores de riesgo inmunológicos y cardiovasculares atenuaron la asociación observada, y los autores concluyeron que los niveles sistémicos de IL-8 preceden a la EAC, pero no representan un factor de riesgo independiente (330). Tras intervención percutánea coronaria en pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM), sus niveles séricos aumentados son probablemente un predictor del desarrollo de insuficiencia cardíaca en pacientes con IAM (331). Los niveles séricos elevados de IL-8 es un marcador útil para la detección de angina inestable, así como un marcador más precoz de IAM que los cambios en la mioglobina sérica, leucocitos, creatin kinasa y creatin kinasa MB (332) y también estaban significativamente más elevados en pacientes con angina inestable o IAM que en sujetos controles sanos, sugiriendo que la IL-8 está implicada en el proceso de cardiopatía isquémica (333). En pacientes de alto riesgo sin evidencia directa de EAC, los niveles circulantes de MCP-1 e IL-8 están asociados con parámetros relacionados con la obesidad como el índice de masa corporal, el perímetro de cintura , la proteína C reactiva, la IL-6, el índice HOMA, y la lipoproteína de alta densidad (334).

Hay suficientes evidencias en la literatura científica que apoyan la implicación de la IL-8 en el establecimiento y la preservación del microentorno inflamatorio de la pared vascular lesionada y sus niveles aumentados están correlacionados con un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular o eventos cardiovasculares agudos. Sin embargo, se precisan más datos para ver su aportación adicional a los factores de riesgo tradicionales como marcadores pronósticos cardiovasculares.

### **TGFβ**

TGFβ es una superfamilia que incluye muchas citoquinas relacionadas estructuralmente y que dan lugar a respuestas y funciones dependientes de tejido y de célula ya que regula varios procesos que

implican la proliferación, diferenciación, adhesión y migración (335),(336). El tipo de respuesta TGF $\beta$  y la dirección de la misma pueden ser determinadas por factores a nivel epigenético o de señalización genética.

TGF- $\beta$  tiene un papel antiaterogénico. La sobreexpresión de TGF-  $\beta$  atenua la aterosclerosis, el estrés oxidativo y la inflamación, y estabiliza las placas. La estabilización de la placa mediada por TGF-  $\beta$  parece estar mediada a través de una vía dependiente de IL-17. Diversos hallazgos experimentales sugieren que la señalización TGF $\beta$  y perturbaciones de ella están implicadas en la modulación de muchos componentes cruciales de la progresión de la EAC (337),(338) . Algunas evidencias sugieren que la señalización TGF $\beta$  interfiere con el colesterol en la formación inicial de la lesión, que puede modular la relajación de células musculares lisas mediada por NO y afecta a la producción de colágeno (337), sugiriendo un papel en el mantenimiento de la estructura de la pared vascular. En general, los efectos de TGF $\beta$  se consideran antiinflamatorios, al igual que su papel en EAC e IAM (339),(337).

La disrupción de su señalización acelera el desarrollo aterosclerótico vinculado a una inflamación aumentada y un contenido de colágeno disminuido. La disrupción de la señalización TGF-  $\beta$  en las células también acelera la aterosclerosis y está asociada con un aumento de células T, macrófagos activados y contenido de colágeno reducido. La falta de TGF $\beta$  se ha relacionado con una formación de placa aumentada e incluso un riesgo aumentado de ruptura de placa, ya que TGF $\beta$  también regula la fibrosis (340),(341),(337). TGF $\beta$  puede no solo estar implicada en la progresión de EAC sino también en su regresión. TGF $\beta$  es crucial en la remodelación cardíaca y en los mecanismos de reparación post-IAM disminuyendo el infiltrado inflamatorio y mediando la deposición de matriz extracelular en el miocardio infartado (339). En conjunto la señalización TGF $\beta$  puede estar implicada en varios estadios de la iniciación, progresión y regresión de la EAC.

### **MCP-1**

La proteína-1 quimioatrayente de los monocitos (MCP-1), es una quimioquina que ha sido detectada en lesiones ateroscleróticas (342),(343). Se considera que juega un papel crucial en el inicio de la aterosclerosis reclutando macrófagos y monocitos hacia el interior de la pared del vaso y activando estas células para inducir daño endotelial (344).

Los niveles plasmáticos de MCP-1 están elevados en pacientes con enfermedad arterial coronaria, siendo los más altos en aquellos con síndrome coronario agudo y en pacientes a los que se hizo angioplastia transluminal percutánea (345),(346).Niveles elevados de MCP-1 circulantes se correlacionaron positivamente con la mayoría de factores de riesgo cardiovascular, medidas de la carga de aterosclerosis coronaria y la incidencia de EAC (347),(348).En una amplia población de pacientes estabilizados tras síndrome coronario agudo, las mediciones de niveles plasmáticos de MCP-1 basalmente, a los 4 y 12 meses, y la correlación con los eventos clínicos indicó que los

niveles plasmáticos de MCP-1 >238 pg/ml se asociaron independientemente con mortalidad tras ajuste por los predictores de riesgo estándar y niveles de PCR y péptido natriurético tipo B, sugiriendo que MCP-1 proporciona un valor pronóstico independiente tanto en la fase aguda como en la crónica tras un síndrome coronario agudo (349).

Además se ha observado un papel de esta quimioquina en la obesidad y en la diabetes asociada a la misma, correlacionándose también con otros marcadores del síndrome metabólico como la insulinoresistencia o los niveles plasmáticos de triglicéridos (350).

### **GMCSF**

Los factores estimuladores de colonias (CSFs) son una familia de glicoproteínas secretadas con capacidad de estimular la diferenciación de las células progenitoras y células madre hematopoyéticas in vitro y la proliferación hacia colonias de macrófagos y granulocitos maduros (351).

El factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF) actúa sobre las colonias de macrófagos y granulocitos, el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) promueve las colonias de macrófagos, el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) lo hace sobre las de granulocitos y el multi-CSF estimula una multitud de colonias de células hematopoyéticas. Múltiples células vasculares pueden tanto expresar como responder a CSFs. El GM-CSF se expresa poco en las células endoteliales, células musculares lisas vasculares e incluso en los macrófagos en condiciones basales y requiere un estímulo inflamatorio (ej TNF  $\alpha$  o IL-1) (352) o la LDL oxidada (353) para su inducción.

Los CSFs participan en la maduración de las células progenitoras mieloides y pueden actuar sobre los granulocitos y macrófagos maduros con un papel directo en la regulación de las respuestas inflamatorias e inmunes pudiendo modular todas las fases de la aterosclerosis. Los macrófagos maduros representan dos fenotipos morfológicamente diferentes: los GM-Mac (morfología redondeada) y los M-Mac (principalmente elongados). Los datos de expresión génica en placas ateroscleróticas humanas y de ratones, sugieren que un balance entre GM-CSF y M-CSF define la polarización funcional de los macrófagos y puede así dictar la progresión de las placas ateroscleróticas (354),(355). Los macrófagos M2 (M-Mac) tienen propiedades antiinflamatorias mientras que los macrófagos M1 (GM-Mac) son proinflamatorios. Cuando están expuestos a LDL oxidada hay un cambio fenotípico en los M-Mac de un estado antiinflamatorio a un estado proinflamatorio, en parte regulado por KL2, el cual puede entonces contribuir al inicio y progresión de la aterosclerosis (355).

En un lecho inflamatorio como la lesión aterosclerótica, los macrófagos probablemente están expuestos a ambos CSFs a la vez (356) siendo posible una competencia entre ambos CSFs. Se ha

planteado que en un estado inflamatorio de bajo grado, los macrófagos están expuestos primariamente a M-CSF y se polarizan hacia un estado “M-2 like”, con la capacidad de promover la angiogénesis y la reparación tisular. Por el contrario, cuando la inflamación está aumentada y aumenta la producción de GM-CSF (y predominan otras moléculas proinflamatorias como el IFN- $\gamma$  y productos bacterianos), la señalización del receptor M-CSF está comprometida y los macrófagos adquieren un fenotipo proinflamatorio “M1-like”, el cual puede ser revertido si los niveles de GM-CSF menguan y la concentración de M-CSF permanece constante, favoreciendo la resolución de la inflamación. (357),(358). Parece que la estimulación GM-CSF regula negativamente la expresión proteica del receptor M-CSF en la membrana de los macrófagos, limitando así su capacidad de responder a M-CSF (359). GM-Mac y M-Mac liberan citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias como el interferon tipo 1 (IF-1) e IL-10, respectivamente, los cuales pueden influir en la polarización de los macrófagos (358). En respuesta a la activación por bacterias (lipopolisacáridos) o por citoquinas inflamatorias (IFN- $\gamma$  y CD40L), GM-Mac produce moléculas proinflamatorias como la IL-6, IL-23 y el TNF- $\alpha$  mientras que M-Mac expresa la citoquina antiinflamatoria IL-10 (360). La polarización de los macrófagos por estas quimioquinas puede influir en el carácter proinflamatorio o antiinflamatorio de la respuesta inmune y su modulación de la progresión de la placa aterosclerótica. GM-Mac facilita las respuestas de células T helper tipo 1 (Th1), mientras que la M-Mac retrasaría la función Th1 y promueven la actividad Th2 (361).

Se ha propuesto que la captación de las abundantes lipoproteínas modificadas en la placa aterosclerótica por las M-Mac induce una transición fenotípica en estos macrófagos hacia un status más proinflamatorio a través de una expresión aumentada de IL-6, IL-8 y MCP-1 y reducida de IL-10 y concordantemente expresa el receptor de GM-CSF, sugiriendo que se parecen mucho a las GM-Mac (362),(355). Varias metaloproteinasas de la matriz (MPP) están reguladas positivamente en las GM-Mac (MPP-12 y MPP-14) en comparación con las M-Mac favoreciendo la progresión de la placa aterosclerótica (363),(364) y la susceptibilidad a apoptosis de los monocitos y macrófagos en la placa aterosclerótica.

Los estudios animales y en humanos apoyan un efecto de GM-CSF favorecedor de la vulnerabilidad de la placa aterosclerótica (365) y promotor de la formación de la neoíntima (366).

### **Leptina**

La leptina es una adipoquina que modula la incorporación y el gasto de energía, el metabolismo lipídico, la hematopoyesis, la termogénesis y la función de las células  $\beta$  pancreáticas y de los ovarios (367),(368). Actúa en los receptores del endotelio y de las células musculares lisas vasculares, influye en el tono vascular y promueve la proliferación del endotelio y del músculo liso vascular y la migración (369). Tiene una acción vasodilatadora mediada por óxido nítrico (NO) la cual está asociada a una reducción de la presión arterial (370). A pesar de este efecto vasodilatador,



se ha demostrado que la leptina disminuye el NO biodisponible por las células endoteliales expuestas a esta adipocina durante 12 horas. Esto se cree está causado por un estrés oxidativo aumentado que conduce a una deplección del NO endotelial y a un aumento del ONOO (-) citotóxico, que está asociado a una disfunción endotelial (371). En las células endoteliales de vena umbilical humana, la leptina demostró regular positivamente la endotelina-1 (372), un potente vasoconstrictor y mitógeno. También ejerce un efecto simpaticomimético que resulta en hipertensión arterial mediado por una reabsorción aumentada de sodio tubular y la subsecuente expansión de volumen (373). La leptina promueve la agregación plaquetar y la trombosis arterial (374), y actúa en los macrófagos induciendo la acumulación de colesterol en condiciones hiperglucémicas a través de un aumento de la actividad de la Acyl-CoA: colesterol O-acyltransferasa (ACAT) (375) y la liberación de factor estimulador de la colonia de monocitos (376).

Un metaanálisis de 7 estudios prospectivos identificó una moderada asociación entre la leptina y el riesgo de enfermedad arterial coronaria, la cual era principalmente dependiente del índice de masa corporal (377). Por otro lado, estudios experimentales in vivo e in vitro identificaron un papel neuroprotector contra el daño neuronal isquémico (378). En base a estos resultados contradictorios se ha planteado la posibilidad que la leptina estimula diferentes vías moleculares en diferentes tejidos dependiendo de su concentración en un microentorno específico.

### **Adiponectina**

La adiponectina es un polipéptido que ha sido asociado, aparte de con la obesidad y la aterosclerosis, con la esteatosis hepática (379), (380), la diabetes mellitus tipo 2 (381) y el síndrome metabólico (382).

Diversos estudios han aportado evidencias de sus efectos protectores en el proceso aterosclerótico. La adiponectina se acumula en el espacio subendotelial de la pared vascular cuando hay una disrupción de la barrera endotelial y suprime la expresión de moléculas de adhesión inducida por TNF- $\alpha$  en las células endoteliales (383).

Se ha demostrado que reduce los niveles de mRNA de VCAM-1 y del receptor scavenger de clase A y suprime el TNF- $\alpha$  disminuyendo la activación de NF- $\kappa$ B (384). Inhibe la transformación de los macrófagos en células espumosas (385) y disminuye la respuesta inflamatoria del endotelio (386).

La hiperadiponectinemia se ha descrito en sujetos con diabetes tipo 2 con macroangiopatía (387) y en pacientes con enfermedad arterial coronaria (388),(389),(390),(391). Sin embargo, un metaanálisis de 7 estudios prospectivos en 1318 pacientes con enfermedad arterial coronaria mostró que la asociación entre adiponectina y el riesgo de enfermedad arterial coronaria era solo moderada (392). Concentraciones bajas de adiponectina se han asociado a enfermedad arterial con

mayor rigidez y aumento del grosor de la íntima-media carotídea (386), (393),(394) , vasculopatía periférica sintomática (395) así como a dislipemia (396).

### **PAF-AH**

La acetilhidrolasa del factor activador de las plaquetas (PAF-AH) ( también conocida como lipoproteína asociada a fosfolipasa A2 (Lp-PLA2)) es un enzima sintetizado en los macrófagos y en las plaquetas activadas, el cual circula sobretodo en las LDL, y está expresado abundantemente en las placas ateroscleróticas. Las estatinas reducen los niveles de PAF-AH hasta en un 35% (397) pero el grado de la reducción no puede ser predecida basada únicamente en los niveles de colesterol LDL.

Las publicaciones sobre los efectos de la PAF-AH han producido cierta controversia sobre su rol biológico (398). Algunos autores describían efectos ateroprotectores al hidrolizar mediadores potencialmente aterogénicos como la LDL oxidada y el factor activador de las plaquetas (PAF) de propiedades proinflamatorias. Por el contrario los estudios más recientes le otorgan funciones proinflamatorias ya que productos de la degradación de las mencionadas moléculas por el enzima son proinflamatorios, proliferativos y favorecedores de la aterogénesis. La PAF-AH hidroliza los fosfolípidos oxidados generados durante la oxidación de la LDL y conduce a la formación de lisofosfatidilcolina y ácidos grasos no esterificados oxidados, los cuales regulan positivamente las moléculas de adhesión de monocitos y el MCP-1 (399) . La PAF-AH actúa preferentemente en los fosfolípidos oxidados sin efectos en los fosfolípidos naturales de las membranas celulares y además libera metabolitos del ácido araquidónico.

Diferentes estudios han observado una elevada expresión de PAF-AH en los macrófagos de lesiones ateroscleróticas humanas y de animales de experimentación, asociada a mayor vulnerabilidad de la placa (400). Un estudio prospectivo de 167 pacientes con endarterectomía carotídea mostró una expresión local aumentada de PAF-AH y lisofosfatidilcolina en las placas vulnerables de los pacientes sintomáticos en comparación a los asintomáticos (401), reflejando una mayor propensión a su ruptura.

Además la PAF-AH exógena inhibe la apoptosis celular endotelial inducida por las partículas de LDL mínimamente modificadas (402), reduce la captación celular de LDL oxidada y el acúmulo de colesterol por los macrófagos derivados de los monocitos sugiriendo que limitan la formación de células espumosas (403) . Tanto la deplección genética como farmacológica de PAF-AH en lipoproteínas mínimamente modificadas aumenta la adhesión monocitaria a las células endoteliales aórticas en comparación con lipoproteínas mínimamente modificadas que expresan niveles de actividad normales (404).

Sin embargo los estudios clínicos muestran una relación con un mayor riesgo cardiovascular. En un meta-análisis que incluye 79.036 participantes en 32 estudios prospectivos, la masa y la actividad

de la PAF-AH circulante mostraron asociación significativa y consistente con un riesgo aumentado de cardiopatía isquémica (405). En el mismo sentido, se ha demostrado que la actividad PAF-AH es un predictor independiente de cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular isquémico, incluso tras el ajuste por factores de riesgo cardiovascular tradicionales y por la proteína C reactiva (406),(407). La masa de PAF-AH también predice eventos cardiovasculares futuros en pacientes con ECV estable (408),(409),(410), tras ajuste por edad, sexo, historia basal de enfermedad vascular, y otros factores de riesgo lipídicos y no lipídicos.

La evaluación de su valor predictor de complicaciones cardiovasculares ha mostrado resultados desiguales, con algunos estudios sugiriendo su utilidad (411)(412) y otros estudios mayores como un análisis de subgrupos del el FRISC II [Fragmin and Fast Revascularization During Instability in Coronary Artery Disease II y el GUSTO IV [Global Utilization of Strategies to Open Occluded Arteries IV (413), o el PROVE-IT [Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy (414) donde los niveles basales de masa o actividad PAF-AH no predijeron eventos recurrentes, como IAM, AVC o muerte.

El tratamiento con darapladib, un inhibidor potente, reversible y selectivo de la actividad PAF-AH, en pacientes con enfermedad arterial coronaria documentada angiográficamente previene la expansión del núcleo necrótico de la placa sin alterar los niveles de lipoproteínas séricas (415). Sin embargo, su adición a una terapia farmacológica óptima no disminuyó el riesgo de eventos cardiovasculares mayores en los estudios SOLID-TIMI 52 (416) y STABILITY (417).

En general se considera que la PAF-AH esté implicada en la patogénesis de la aterosclerosis a través de vías relacionadas con la inflamación y puede ser un biomarcador relacionado con el metabolismo de las lipoproteínas, la inflamación vascular y la vulnerabilidad de la placa, más que una vía causal de enfermedades cardiovasculares.

# **JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO**



## 1. JUSTIFICACIÓN:

La hiperlipemia familiar combinada es la dislipemia genética más frecuente pudiendo presentar una prevalencia de hasta el 2% de la población. Es una enfermedad hereditaria compleja de fenotipo variable. Pese a su elevada incidencia, la variabilidad fenotípica que la caracteriza tanto a nivel intraindividual como entre los diferentes miembros de las familias afectadas es un importante factor contribuyente a su infradiagnóstico.

La relevancia de esta entidad tanto a nivel clínico como epidemiológico no radica exclusivamente en su elevada prevalencia poblacional sino de modo aún más crítico en su asociación a un alto riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. Además, el riesgo asociado se hace aún más patente a edades precoces, hallándose en más de un tercio de los sujetos menores de 40 años que sobreviven a un infarto agudo de miocardio (3).

La enfermedad cardiovascular es la principal causa de mortalidad en Europa y en todo el mundo. Representa el origen de más del 40% de los casos de fallecimiento en nuestro continente (418). Las enfermedades cardiovasculares tiene como fenómenos causales más frecuentes la arteriosclerosis y la trombosis, siendo la aterosclerosis el proceso fisiopatológico subyacente a los mismos. A lo largo de los últimos años han surgido evidencias de la importancia de la inflamación en el desarrollo de la aterosclerosis.

La hiperlipemia familiar combinada presenta un perfil lipídico con alteraciones características de reconocida capacidad aterogénica. Se caracteriza por elevadas concentraciones de apolipoproteína (apo) B, bajos niveles de colesterol HDL y la presencia de LDLs pequeñas y densas, asociándose frecuentemente con el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina. Todas estas alteraciones se asocian con el desarrollo de arteriosclerosis y trombosis y están estrechamente interrelacionadas entre sí, aunque el conocimiento de esta interrelación es parcial por la complejidad de la misma. El sustrato fisiopatológico de esta dislipemia genética es complejo y aún no del todo conocido. El proceso subyacente parece implicar la interacción de factores ambientales y la expresión fenotípica de diversas variantes de genes vinculados con el metabolismo de los lípidos. Como consecuencia de dicha interacción aparecen modificaciones del perfil de lipoproteínas que promueven un estado prooxidativo y proaterogénico. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) poseen propiedades que potencialmente podrían ayudar a contrarrestar dichos efectos perniciosos. La caracterización detallada de las HDL en esta enfermedad y su respuesta a la terapéutica habitualmente empleada aún resta por ser bien definida.

Además, hay evidencias experimentales que indican que las lipoproteínas pueden tener un papel relevante en la aparición de un estado sistémico proinflamatorio pero son aún escasos los datos que describen su papel en la HFC. Para intentar caracterizar a nivel general la inflamación se han

propuesto diferentes biomarcadores que permitan evaluar dicha actividad, su asociación a la modificación de diversos parámetros biológicos y monitorizar su respuesta a terapias implementadas. La expresión basal y la potencial modificación de los biomarcadores implicados en dicha inflamación en la hiperlipemia familiar combinada por la terapéutica habitualmente empleada en la misma no ha sido bien descrita.

Así pues, una caracterización más detallada de la inflamación y de las modificaciones en las lipoproteínas de alta densidad a nivel basal y la respuesta de ambas a las terapias farmacológicas habitualmente empleadas en la HFC podría ser una importante aportación al conocimiento de esta enfermedad y una contribución al desarrollo de futuros tratamientos para la misma. Por otra parte, los posibles resultados de estos estudios contribuyendo a desvelar las relaciones existentes entre los marcadores de inflamación sistémica, las citoquinas y las alteraciones funcionales de las HDL podrían ayudar a mejorar la predicción y reducción del riesgo cardiovascular en los pacientes con HFC.

## **2. HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

Las enfermedades que presentan un riesgo cardiovascular elevado se asocian a una inflamación crónica de la pared arterial. Ésta origina las primeras etapas de la arteriosclerosis reflejándose a nivel sistémico por cambios de concentración de diferentes marcadores de la inflamación. Los individuos con hiperlipemia familiar combinada (HFC) representan un grupo poblacional de alto riesgo cardiovascular por lo que la inflamación y sus marcadores biológicos sistémicos deberían hallarse aumentados. La interrelación entre la dislipemia, la inflamación y la arteriosclerosis en la hiperlipemia familiar combinada ha sido poco estudiada.

Las propiedades protectoras de las HDL en la expresión y liberación de mediadores inflamatorios, la oxidación lipídica y el transporte inverso de colesterol permiten que estas lipoproteínas tengan un efecto protector frente a los estados proinflamatorios. Por otro lado, los estados proinflamatorios causan una disminución de sus concentraciones plasmáticas y alteran también la función antiinflamatoria de las HDL.

El perfil lipídico que se asocia típicamente a la HFC incluye un predominio del fenotipo B de LDL (pequeñas y densas), un aumento de la proporción de LDL modificada (LDL negativa y LDL oxidada) y con frecuencia una disminución de las HDL antiaterogénicas. Estos datos sugieren un predominio de los mecanismos que promueven la inflamación por encima de aquellos que la contrarrestan y es probable que las alteraciones tanto cualitativas como cuantitativas de las lipoproteínas en esta enfermedad jueguen un papel significativo en dicho desequilibrio. La diversidad de expresión fenotípica de esta enfermedad poligénica podría condicionar diferentes resultados en el balance mencionado.

Nuestra hipótesis es que la hiperlipemia familiar combinada presenta un fenotipo proaterogénico determinado por sus alteraciones del metabolismo lipídico, incluyendo modificaciones cualitativas y cuantitativas en las HDL, y su asociación a biomarcadores de inflamación sistémica, por lo que el tratamiento adecuado de estos pacientes puede reducir estas alteraciones contribuyendo probablemente a un descenso del riesgo cardiovascular asociado.





## **OBJETIVOS**



## **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general del estudio consiste en la definición de las características del estado inflamatorio y de las modificaciones de las HDLs que subyacen en los pacientes con hiperlipemia familiar combinada asociadas a los cambios en el metabolismo lipídico y comprobar el efecto de la terapéutica en estos pacientes sobre las alteraciones mencionadas que se asocian a un elevado riesgo cardiovascular.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Definir el patrón de biomarcadores de la inflamación y adipoquinas, así como las modificaciones cuantitativas y cualitativas de las partículas de colesterol LDL y HDL en sujetos con hiperlipemia familiar combinada (HFC).
2. Estudiar la asociación entre los biomarcadores inflamatorios y adipoquinas con el fenotipo de las lipoproteínas de alta y baja densidad en pacientes con HFC.
3. Evaluar el grado de consecución de objetivos terapéuticos en los pacientes con HFC en la práctica clínica habitual, así como el efecto del tratamiento hipolipemiente sobre los biomarcadores de la inflamación, las adipocitoquinas y las características cuantitativas y cualitativas de las partículas de colesterol LDL y HDL en sujetos con HFC
4. Investigar la relación entre la mejoría de las alteraciones lipídicas y las modificaciones en los biomarcadores inflamatorios y adipocitoquinas en los pacientes con HFC que han recibido tratamiento.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



Para la comprobación de nuestra hipótesis de trabajo y la consecución de los objetivos planteados se llevaron a cabo dos estudios clínicos los cuales son expuestos en la presente tesis doctoral. El primero de ellos fue un estudio de análisis transversal incluyendo individuos con hiperlipemia familiar combinada (HFC) sin tratamiento hipolipemiante y sujetos controles sanos. En el segundo se realizó el seguimiento de una cohorte del grupo de pacientes con HFC que participaron en el primer estudio una vez instaurada terapia hipolipemiante y se evaluó su respuesta al tratamiento.

## 1. ESTUDIOS INCLUIDOS

### 1.1 Estudio clínico transversal

- Diseño:

Se diseñó un estudio transversal para poder evaluar los objetivos específicos 1 y 2 previamente comentados. Se trataba de un estudio transversal de casos (individuos con HFC) y controles: se les realizó una historia clínica completa y un examen físico detallado, evaluación antropométrica y extracción de muestra sanguínea, tras ayuno nocturno, para la determinación de las variables estudiadas.

- Pacientes:

En el estudio clínico transversal se incluyeron 110 pacientes con hiperlipemia familiar combinada y 93 individuos en el grupo control los cuales fueron analizados para evaluar las diferencias en el perfil lipídico y en diversos biomarcadores de inflamación y adipocitoquinas asociados a un mayor riesgo cardiovascular.

Los pacientes con hiperlipemia familiar combinada fueron reclutados consecutivamente entre aquellos que acudieron a las consultas externas del Servicio de Endocrinología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Los pacientes incluidos habían de cumplir con los requisitos establecidos para participar en el estudio y habían de aceptar la participación mediante la firma de un consentimiento informado previamente.

Los criterios de inclusión incluían:

- Hombres y mujeres con el diagnóstico de hiperlipemia familiar combinada (los criterios de diagnóstico de la HFC se detallan al final de este apartado)
- Edad: 18-80 años
- Ausencia de otros procesos no controlados y con conocido efecto sobre los parámetros estudiados



-Ausencia de tratamiento con fármacos o toma de drogas con conocido efecto sobre los parámetros estudiados.

Asímismo, se reclutaron 93 sujetos para el grupo control, aparentemente sanos, sin diagnóstico previo de trastornos del metabolismo lipídico, sin historia familiar de hiperlipemia, sin diabetes, obesidad ni enfermedad cardiovascular, que no padeciesen enfermedades crónicas, cuyo índice de masa corporal no fuese inferior a 20 kg/m<sup>2</sup> ni superior a 35 kg/m<sup>2</sup> y que presentasen un nivel de colesterol y triglicéridos por debajo del percentil 50 del publicado para la población de nuestro país. (419). Dichos sujetos eran preferentemente familiares de los casos índice que no compartían lazos de sangre (esposo/esposa) o procedían de revisiones médicas rutinarias de empresa.

## **1.2. Estudio clínico longitudinal**

- Diseño:

Con el objeto de dar respuesta a los objetivos 3 y 4 anteriormente reseñados se diseñó un estudio prospectivo longitudinal.

Se trataba de un estudio longitudinal prospectivo de pacientes con hiperlipemia familiar combinada antes y después de implementación terapéutica. Se les realizó una historia clínica completa y un examen físico detallado, evaluación antropométrica y extracción de muestra sanguínea, tras ayuno nocturno, para la determinación de las variables estudiadas al inicio del estudio antes de instaurar terapia hipolipemiente y al final del mismo.

- Pacientes:

En el estudio longitudinal, 57 de los pacientes con hiperlipemia familiar combinada visitados de modo consecutivo en nuestro centro e incluidos en el estudio transversal fueron seguidos prospectivamente a lo largo de una media de  $98,33 \pm 60,31$  días para evaluar los cambios producidos a nivel lipídico con el tratamiento hipolipemiente, la consecución de objetivos terapéuticos y su repercusión en los biomarcadores de inflamación y de riesgo cardiovascular.

Se establecieron como objetivos del tratamiento los siguientes: cLDL < 2.6 mmol/l, colesterol no HDL < 3.4 mmol/l, apo B < 0.9 gr/l, triglicéridos < 2.3 mmol/l, cHDL  $\geq 1.0/1,3$  mmol/l (varones/mujeres).

Todos los participantes en ambos estudios fueron reclutados entre 2007 y 2008 en nuestro hospital, un centro asistencial de tercer nivel en Barcelona. La investigación en ambos estudios siguió los principios formulados en la Declaración de Helsinki y fue aprobada por el comité ético del hospital

de la Santa Creu i Sant Pau. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito previo a su participación en el estudio.

## **2. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA**

### FAMILIA AFECTA

1. Dos o más miembros de primer grado afectados de hiperlipemia mixta, o de combinaciones de fenotipos, entre hipercolesterolemia pura (IIa), hiperlipemia mixta (IIb) o hipertrigliceridemia (IV).

### EXCLUSIÓN

- a. Presencia de xantomas tendinosos en la familia
- b. Cifras de colesterol LDL(cLDL) >300 mg/dL en dos o más familiares de primer grado con fenotipo IIa

### DIAGNÓSTICO DE PERSONAS AFECTAS

1. En adultos, que pertenezcan a familias con hiperlipemia familiar combinada, colesterol total superiores a 240 mg/dL (o cLDL>160 mg/dL) y/o triglicéridos superiores a 200 mg/dL. En menores de 20 años pertenecientes a dichas familias, colesterol total >200 mg/dL (o cLDL>130 mg/dL) y/o triglicéridos >120 mg/dL.
2. Descartar causas secundarias.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- a. Índice de masa corporal (IMC) >35 kg/m<sup>2</sup>
- b. HbA1c >10% (en sujetos con hiperlipemia mixta o hipertrigliceridemia)
- c. Hipotiroidismo no controlado (TSH> 5 mUI/L)
- d. Consumo de alcohol > 40g/día
- e. Consumo de fármacos (corticoides, antipsicóticos de nueva generación), enfermedad hepática, insuficiencia renal, procesos inflamatorios agudos, trasplantes, infecciones en fase aguda, neoplasias y procesos crónicos en general

### **3. METODOLOGÍA:**

A todos los participantes se les realizaron los siguientes procedimientos en las visitas del estudio, ya fuesen previas o posteriores a la instauración del tratamiento hipolipemiente.

#### **3.1 Historia clínica:**

Se realizó la historia clínica de todos los pacientes con el objetivo de recoger datos acerca de los antecedentes familiares y personales, patologías concomitantes y medicación habitual. Asimismo se efectuó un examen físico completo a los participantes.

#### **3.2 Medidas antropométricas y de la tensión arterial**

Se recogieron el peso, la talla y el índice de masa corporal (calculado como  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla (m)}^2$ ). El perímetro de cintura se midió tomando la circunferencia en el punto medio entre la última costilla y el borde superior de la cresta iliaca.

La tensión arterial se midió con esfigmomanómetro en 2 ocasiones separadas por 5 minutos y en posición de sedestación tras un descanso de 5 minutos.

#### **3.3 Determinaciones analíticas**

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas tras un ayuno nocturno para la determinación de las variables a estudiar. Se recogieron en tubos Vacutainer (BD, Franklin Lakes, New Jersey, NJ, EEUU) que contenían ácido etilendiaminotetraacético (EDTA-plasma) o sin aditivos (suero). Dichas determinaciones se realizaron en cada una de las visitas, ya fuese antes o posteriormente al inicio de la terapia hipolipemiente.

Se determinaron diversas variables que podemos agrupar para su posterior análisis en los siguientes tipos:

- a) Parámetros lipídico-metabólicos generales
- b) Marcadores bioinflamatorios y citoquinas
- c) Variables referentes a las modificaciones de las LDLs
- d) Variables referentes a las características de las HDLs

Las extracciones sanguíneas fueron realizadas tras ayuno nocturno. El perfil lipídico básico se obtuvo utilizando muestras de suero. El resto de los análisis fueron realizados usando muestras de plasma con EDTA congeladas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante menos de 4 meses. Para minimizar la variabilidad, las muestras del mismo sujeto fueron analizadas en la misma tanda experimental.

\* Parámetros lipídico-metabólicos:

a) Lipídicos:

El perfil lipídico básico determinado comprendía los triglicéridos, el colesterol total, el colesterol VLDL (cVLDL), el colesterol LDL (cLDL), el colesterol HDL (cHDL), los ácidos grasos no esterificados (NEFA) y la apolipoproteína B (ApoB). Todos los reactivos se adquirieron de Roche Diagnostics (GmbH, Basilea, Suiza), excepto los NEFA, que fueron de Wako Chemicals (Neuss, Germany). Todos los tests se realizaron en un autoanalizador Hitachi 917.

El colesterol total y los triglicéridos fueron medidos por métodos enzimáticos disponibles comercialmente, y el cHDL fue medido por un método directo. El cLDL fue calculado usando la fórmula de Friedewald cuando los triglicéridos no superaban los 300 mg/dl (3.45 mmol/l) (420). En caso contrario, se realizaba ultracentrifugación, y el cLDL era estimado en el infranadante tras separar la fracción con una densidad menor de 1006 kg/l, según las recomendaciones del NCEP-ATP-III (421). El cVLDL fue determinado por sustracción. El colesterol en las fracciones de las lipoproteínas se midió utilizando un método directo para cuantificar cHDL (HDL-C plus; Roche Diagnostics GmbH) o mediante ultracentrifugación cuando la concentración de triglicéridos fue superior a 3 mmol/l, de acuerdo con las recomendaciones del NCEP (ATP III) (421).

La lipoproteína a (Lp (a)) se midió mediante un ensayo turbidimétrico utilizando un método comercial (Quantia Lp (a), Abbott, Illinois, USA) con un límite de detección de 70 mg/l.

b) No lipídicos:

En los sujetos con HFC, las concentraciones séricas de insulina fueron medidas con un método inmunométrico quimioluminiscente de dos sitios de unión en fase sólida automatizado (Immulite 2000, Diagnostic Products Corp, Los Angeles, California, USA) con una reactividad cruzada del 8% con la proinsulina y una imprecisión analítica total menor del 7.5% para valores entre 55 y 2100 pmol/l (7.7 y 291 mUI/ml).

La HbA1c se determinó por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (HPLC) (Bio-Rad Laboratories, Munich, Germany), con un rango de referencia de 4,6-5,8%.

#### \*Biomarcadores de inflamación y adipocitoquinas:

Las determinaciones de marcadores de la inflamación y adipocitoquinas incluyeron la proteína C reactiva (PCR), la interleukina 6 (IL-6), la interleukina 8 (IL-8), la proteína quimiotáctica de los monocitos-1 (MCP-1), el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), la leptina y la adiponectina.

La proteína C reactiva (PCR) se determinó mediante un método de alta sensibilidad (hsPCR, Roche Diagnostics) adaptado a un analizador automático Hitachi 917. La interleukina 6 (IL-6), la interleukina 8 (IL-8), el factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y la proteína quimiotáctica de los monocitos-1 (MCP-1) fueron determinadas mediante ELISA comercial (Bender MedSystems). La adiponectina y la leptina se determinaron mediante kits comerciales ELISA (Linco Research).

#### \*Modificaciones de las LDLs:

El tamaño de las LDL se determinó mediante electroforesis del plasma en gel de poliacrilamida con gradiente no desnaturizante (2% a 16%), usando como patrón una mezcla de plasmas con varias bandas de LDL de tamaño conocido, como se ha descrito previamente (197).

El porcentaje de LDL electronegativa (LDL(-)) se determinó a partir de la LDL total por cromatografía de intercambio aniónico en una columna MonoQ HR 5/5 (GE Healthcare, Uppsala, Suecia), utilizando un gradiente de cloruro de sodio (NaCl), tal como se ha descrito previamente (422). Resumiendo brevemente, las partículas LDL se dializaron frente a un tampón A (1 mmol/l de EDTA y 10 mmol/l de Tris-HCL (pH 7,4)) mediante cromatografía de filtración en gel (Columna PD10, G25M; Pharmacia). El tampón A y un tampón B (constituido por 1 mol/l de NaCl, 1 mmol/l de EDTA y 10 mmol/l de Tris-HCL (pH 7,4)), se utilizaron como eluyentes de la cromatografía. La LDL se eluyó a 1 ml/min durante 10 minutos con un gradiente lineal de 0-0,1 mol/l de NaCl, seguido por un procedimiento de gradiente de varios pasos: 10-20 min con NaCl a 0,25 mol/L, 20-28 minutos con NaCl a 0,6 mol/l, 28-35 min con NaCl a 1 mol/l y 35-40 min con NaCl 0 mol/l. Dos formas de LDL, una mayoritaria llamada LDL (+) (elución a 0,2 mol/l) y una forma minoritaria llamada LDL (-) (elución a 0,3 mol/l) difirieron en la carga y se identificaron a 280 nm. Su proporción relativa se cuantificó mediante la integración por picos (423)(422).

La LDL oxidada (LDL<sub>ox</sub>) se cuantificó mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (Oxidized LDL; Mercodia, Uppsala, Suecia), según las instrucciones del fabricante.

#### \*Características de las HDLs:

Se determinó la composición proteómica y lipídica de las HDLs así como actividades enzimáticas ligadas a sus propiedades protectoras y parámetros de su capacidad antioxidativa de las LDLs.

Para la determinación de la composición de las partículas HDL, éstas se aislaron por ultracentrifugación secuencial en el intervalo de densidad de 1.063-1.210 g/ml, utilizando soluciones de KBr. Todas las etapas se realizaron a 4°C y todas las soluciones de KBr contenían 1 mmol/l EDTA y 2 µmol/l BHT para evitar la oxidación de las muestras. El proceso de ultracentrifugación secuencial en rotor de ángulo fijo utilizado fue el descrito a continuación. Las muestras sucesivas fueron sometidas a un proceso de ultracentrifugación a 36.000 rpm, durante 20 horas y a 4° C. Con ello a partir de la muestra inicial de densidad 1.006 g/ml se obtuvo una separación entre las partículas de VLDL flotantes y en el infranadante la muestra de 1.019 g/ml. A dicho infranadante se le añadió KBr y tras el proceso de centrifugación mencionado se obtuvieron flotando las partículas de IDL y un infranadante de densidad 1.063 g/ml. Se repitió el proceso comentado y con KBr en dicha muestra obteniendo en el sobrenadante las partículas de LDL y el infranadante de 1.210 g/ml. Finalmente tras un último procesamiento de esta muestra del mismo modo al anteriormente comentado y adición de KBr se obtuvieron en el sobrenadante las partículas de HDL y en el infranadante el plasma deficiente de lipoproteínas.

Los reactivos para la determinación de la apolipoproteína A-II (apo A-II) se adquirieron de Kamiya (Seattle, USA) y los de la apolipoproteína A-I (apo A-I) de Roche Diagnostics GmbH (Basilea, Suiza). La composición de la HDL se determinó midiendo el contenido de colesterol (Roche), triglicéridos (Roche), fosfolípidos (Wako), NEFA (Wako), ApoA-I (Roche) y ApoA-II (Kamiya), usando métodos comerciales adaptados al autoanalizador Hitachi 917. Se calcularon las proporciones de apo A-I y apo A-II en la masa total de las HDLs.

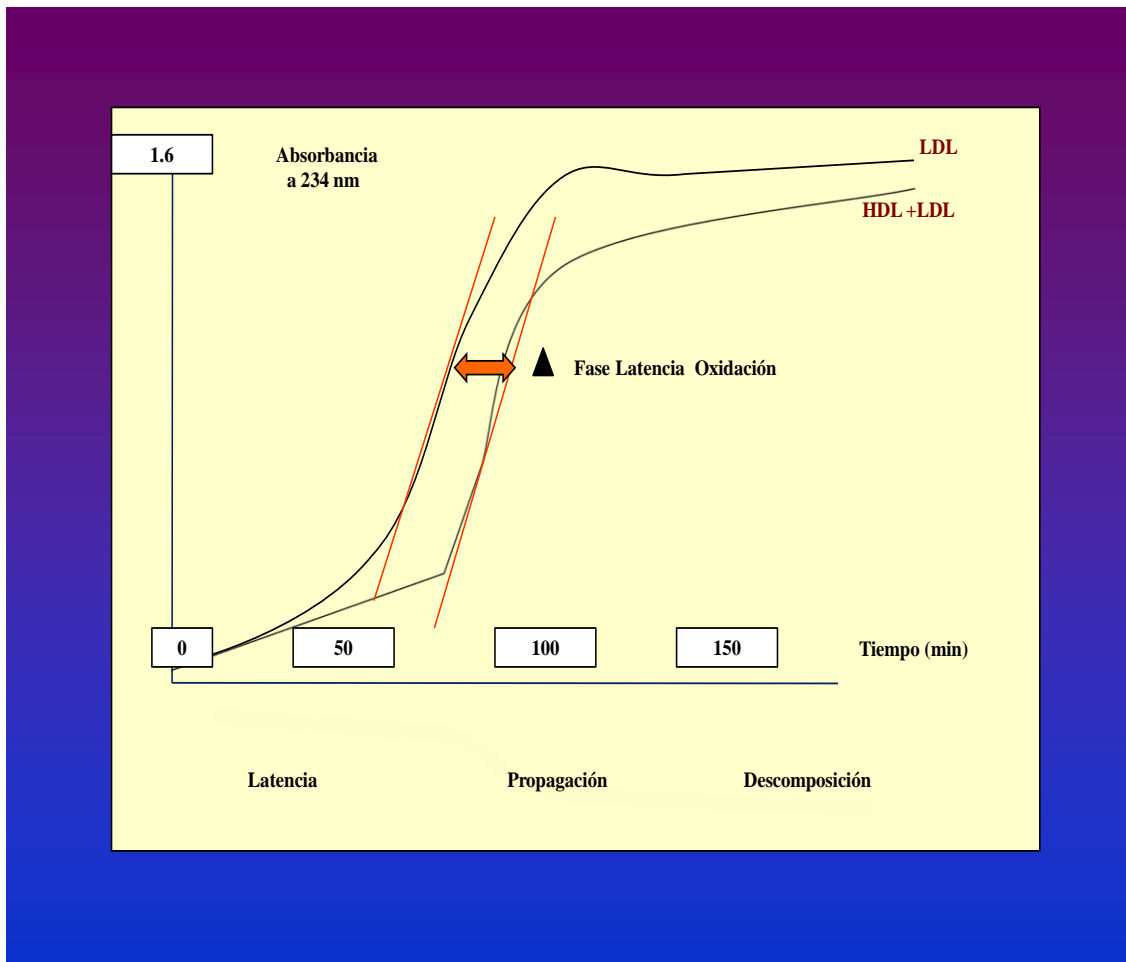
Se determinó en suero la actividad paraoxonasa 1 (PON1), ya que este enzima necesita calcio para su actividad enzimática. Se midió por su capacidad arilesterasa que mide la hidrólisis de fenilacetato a 270 nm (424).

La actividad paraoxonasa/arilesterasa 1 (PON 1) se cuantificó a partir de muestras conservadas en EDTA y utilizando ácido fenilacético como sustrato. Resumiendo, 2 µl de suero se incubaron con 200 µl de tampón (20 mmol/l de Tris-HCl, 2 mmol/l de CaCl<sub>2</sub>, pH 8,0) que contenía 3 mmol/l de ácido fenilacético (23 µl de ácido fenilacético en 50 ml de tampón de ensayo). Con este tampón se midió la actividad arilesterasa sensible a EDTA específica de PON1. Al haber en plasma otras actividades arilesterasa resistentes a EDTA, la actividad específica de PON1 se midió en paralelo, utilizando el mismo tampón pero con 2 mmol/l de EDTA en lugar de CaCl<sub>2</sub>. La cinética enzimática se monitorizó a 270 nm durante 10 minutos a 25°C (coeficiente de extinción molar a 270 nm del fenol  $\epsilon_{270} = 1,310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) en placas microtiter de 96 pocillos para la detección en UV (Greiner). La actividad se calculó a partir de la ecuación [  $(\Delta\text{abs}/\text{min}) * \text{final vol} / (1,310 * \text{sample vol})$  ] y se expresó como µmol/min\*ml.

El enzima acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas (PAF-AH) se encuentra en las LDL (aproximadamente un 65%) y en las HDL (aproximadamente un 30%) e hidroliza con alta afinidad

los ácidos grasos cortos en la posición sn-2 de los fosfolípidos. La determinación de la actividad PAF-AH se realizó en suero y/o en las lipoproteínas aisladas mediante un kit comercial (Cayman Chemicals, Ann Arbor, Michigan) que mide la formación de los grupos sulfidrilo liberados por la acción de este enzima sobre el 2-tio-PAF utilizado como sustrato según las instrucciones del fabricante y según lo descrito previamente (425). Para determinar la distribución entre las fracciones lipoproteicas, las lipoproteínas que contenían apo-B (LDL y VLDL) fueron precipitadas desde el suero utilizando dextrano sulfato, como se ha descrito previamente (426). En resumen, 200  $\mu$ l de suero se mezclaron con el reactivo de sulfato dextrano, se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente y se centrifugaron durante 10 minutos a 10.000 g. Se recogieron 20  $\mu$ l de sobrenadante (conteniendo HDL pero no LDL ni VLDL) y se analizaron para determinar la actividad PAF-AH.

Gráfico 5. Cálculo del incremento de latencia (lag phase) producido por la adición de HDLs a las LDLs.



Las cinéticas de oxidación de las LDLs fueron monitorizadas a través de un seguimiento continuo de la formación de dienos conjugados, un producto de la peroxidación lipídica con una máxima absorbancia máxima a 234 nm tras la adición de  $\text{CuSO}_4$  como prooxidante (427). Este parece ser el

mejor índice de oxidabilidad de la LDL y el más usado (428). Las cinéticas fueron monitorizadas en placas microtituladoras de 96 pocillos para detección UV (Greiner, Hannover, Germany) a 234 nm durante 3 h 50 minutos a 37 °C, usando un lector multi-detector de microplaca Synergy HT (Bio-Tek, Winooski, VT, USA). La oxidación de la LDL se indujo adicionando 5  $\mu\text{mol/L}$  de  $\text{CuSO}_4$ . La oxidación de las cadenas laterales de los ácidos grasos poliinsaturados de las LDLs se acompaña de la formación de dienos que absorben la luz ultravioleta a 234 nm. Dado que la LDL oxidada permanece completamente soluble en el buffer, el aumento de la absorbancia de dienos a 234 nm puede ser medido directamente en la solución, sin extracción de las LDL. La adición de sulfato de cobre a la muestra desencadena un proceso oxidativo de la LDL que muestra una curva con tres fases: una fase de latencia (lag phase), una fase de propagación y una fase de descomposición. La fase de latencia (lag phase), calculada del punto de intersección entre la pendiente máxima de la curva y la absorbancia inicial, revela solo un aumento en la absorción de los dienos (y por tanto en la oxidación) representando la resistencia a la oxidación de la LDL.

Se evaluó la capacidad antioxidativa de las HDLs a través de la medición del incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación de las LDLs y de la inhibición de la movilidad electroforética relativa (Rf) de las LDLs producidas por la adición de las HDLs. Las HDLs funcionales tienen propiedades antioxidantes que ayudan a contrarrestar el proceso oxidativo de las LDLs, aumentando su resistencia al mismo y, por tanto, dilatando la fase de latencia en el proceso. El incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación se evaluó comparando la curva oxidativa de las LDLs de los pacientes en presencia del agente oxidante sulfato de cobre y la modificación de dicha curva al incorporar a la mezcla inicial las HDLs de los individuos. La fase de latencia de la cinética de la LDL se consideró como el 100% de oxidación. Una vez determinadas las cinéticas de las curvas de oxidación, se sustrajo la correspondiente a la HDL aislada de la cinética de la mezcla de HDL+LDL obteniendo el efecto diferencial que la HDL producía en la cinética de oxidación de la LDL y que refleja habitualmente un aumento de la fase de latencia de dicho proceso (expresado en minutos) respecto a la LDL sola. El proceso se esquematiza en el gráfico 5.

La movilidad electroforética relativa (Rf) puede modificarse por el proceso oxidativo de las LDLs, ya que su oxidación aumenta su migración en el gel. El parámetro resulta de calcular el cociente de las movilidades electroforéticas de las muestras respecto a la de la LDL nativa. La LDL tiene una superficie cargada negativamente y migra hacia el ánodo en la electroforesis en gel de agarosa bajo condiciones de no desnaturalización. La oxidación hace que la LDL se cargue más negativamente.



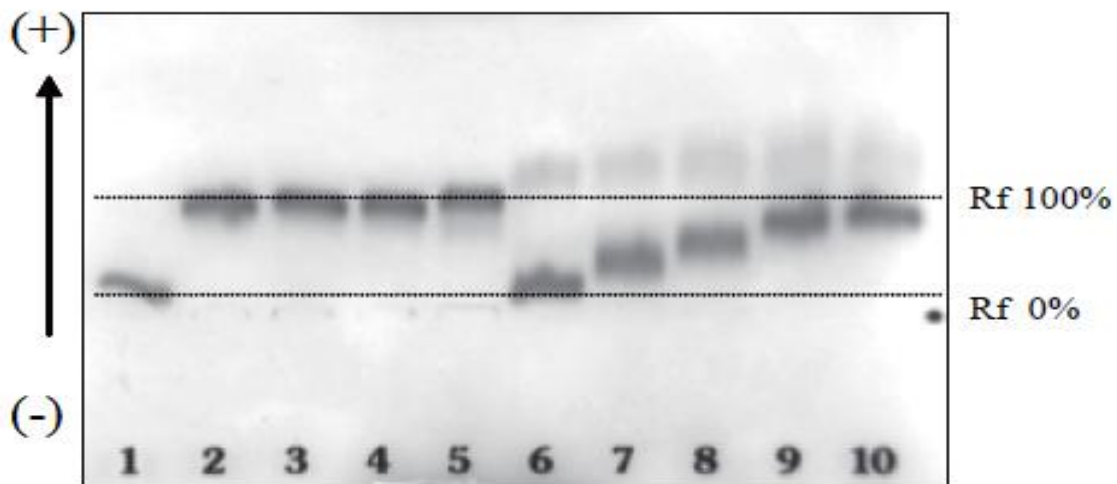


Gráfico 6. Electroforesis en gel de agarosa de muestras de LDL nativa aislada (línea inicial (Rf 0%) muestra 1), muestras de LDL oxidada tras adición de sulfato de cobre a diferentes concentraciones (muestras 2-5) y el efecto sobre las mismas tras la adición de HDLs a la mezcla (muestras 6-10). Adaptado de deJuan-Franco y cols (426).

Por tanto, la inhibición del Rf inducida por las HDLs evaluaría la capacidad de las HDLs de reducir la oxidación de las LDLs al comparar la movilidad electroforética en gel de agarosa de muestras de LDL no oxidada, LDL oxidada y de una mezcla de LDL+HDL de los pacientes. Su medición se realizó según metodología previamente descrita (426).

Inmediatamente tras la determinación de las cinéticas de formación de dienos conjugados, se recogieron muestras de las muestras oxidadas correspondientes a la LDL aislada y a la LDL+HDL para someterlas a electroforesis en gel de agarosa (Lipoprint, Midigel) durante 50 min a 100 V en una habitación fría, empleando el buffer de barbital proporcionado por el fabricante. Los geles fueron fijados con etanol/ácido acético/agua (60:10:30) durante 10 minutos, lavados con agua durante 5 minutos y secados con aire caliente. Los geles fueron teñidos durante 5 minutos con una solución de Sudan Negro (una solución stock de metanol/salino/Sudan Negro, 8:4:0.4). La solución stock se preparó disolviendo 1g en 20 mL de dioxano. Finalmente, los geles fueron desteñidos durante 20 minutos con etanol/agua 50:50 y aclarados dos veces con agua. Cada gel contenía LDL oxidada y LDL no oxidada y muestras con las mezclas de LDL+HDL. La movilidad electroforética relativa (Rf) se calculó como el cociente de las movilidades electroforéticas de las muestras respecto a la de la LDL nativa. Se consideró Rf 0 como el punto de aplicación de la muestra y Rf 100 como la movilidad de la LDL oxidada aislada. Los resultados se expresaron como la inhibición de la movilidad relativa (Rf) inducida por las HDLs. El resultado de este procedimiento se muestra en el gráfico 6.

### **3.4 Recogida de datos y análisis estadístico:**

La recogida de datos se realizó en el momento de la visita del estudio gracias a la creación previa de cuestionarios en papel. A posteriori, se traspasó la información a la base de datos para su posterior análisis con el programa estadístico SPSS (versión 21.0 (SPSS Inc.)).

Para evaluar la normalidad de la distribución de los datos se usó el test de Kolmogorov-Smirnov para muestras con más de 30 sujetos y el test de Shapiro –Wilk para muestras pequeñas. En todos los casos se estableció como umbral de significación una  $p \leq 0,05$ . Las variables cualitativas se expresaron como porcentaje (%) y número de casos (n). Las variables cuantitativas de distribución normal se expresaron como media y desviación estándar y las de distribución no normal se expresaron como mediana y rango. La relación entre variables cualitativas se analizó mediante la prueba del Chi-cuadrado. Las pruebas T-Student (distribución normal) y U MannWhitney (distribución no normal) se utilizaron para estudiar las diferencias entre muestras independientes cuantitativas. Para evaluar las diferencias entre más de dos muestras cuantitativas independientes se usó el análisis de la varianza (ANOVA) comprobando la normalidad de su distribución mediante los test mencionados y la homogeneidad de sus varianzas mediante la prueba de contraste de Levène. Se realizó una comparativa entre pares de medias mediante un contraste a posteriori de Scheffe para detectar las diferencias entre grupos cuando la prueba de Levène era significativa. En caso de distribución no normal la comparativa de más de dos muestras independientes cuantitativas se realizó mediante el test de Kruskal Wallis. En los casos en que se analizó la relación entre dos variables cuantitativas, se utilizaron el coeficiente de Pearson o Spearman, en función de la distribución de las variables incluidas en el análisis.

Además, durante el estudio longitudinal se utilizaron la prueba T para muestras apareadas y el test de T Wilcoxon (para comparar dos muestras relacionadas). Se determinó un nivel de significación estadística  $p \leq 0.05$  en todos los casos.



## **RESULTADOS ESTUDIO TRANSVERSAL**



# 1. CARACTERIZACIÓN ANTROPOMÉTRICO-METABÓLICA DE LOS PACIENTES

Los datos sobre las diferencias entre grupos están expresados como media  $\pm$  desviación estándar si la variable seguía una distribución normal o en mediana  $\pm$  rango si no la seguían y se precisó un test no paramétrico para su análisis.

## COHORTE TOTAL DE PACIENTES

TABLA 1. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS-ANTROPOMÉTRICAS (CASOS VS CONTROLES)

	CASOS	CONTROLES	P
Sexo ( H/M % )	55/45	60/40	0,416
Edad ( años )	49,57 $\pm$ 11,59	44,14 $\pm$ 15,48	0,013*
Talla ( m )	1,67 $\pm$ 0,09	1,65 $\pm$ 0,08	0,353
Peso ( kg )	79,27 $\pm$ 13,30	67,94 $\pm$ 11,66	0,000*
Cintura ( cm )	98,00 $\pm$ 9,85	88,90 $\pm$ 11,69	0,000*
IMC ( kg/m <sup>2</sup> )	28,80 $\pm$ 4,04	24,84 $\pm$ 3,86	0,000*
Insulinemia ( pmol/l )	69,99 $\pm$ 49,47	36,82 $\pm$ 29,13	0,004*
HbA1c ( % )	5,66 $\pm$ 0,48	5,31 $\pm$ 0,52	0,024*

\*p <0,05 H: hombres M: mujeres

En las tablas 1 y 2 se describen los rasgos de la población con hiperlipemia familiar combinada (HFC) y de los controles sin la dislipemia que participaron en el estudio transversal.

Los individuos con HFC tenían mayor **edad** sin diferir significativamente en la **proporción de sexos** respecto a los controles. Su **peso**, el **perímetro de cintura abdominal** y el **índice de masa corporal** eran superiores al igual que lo eran los niveles plasmáticos de la **insulinemia** y de la **HbA1c**. Como suele ser frecuente, esta dislipemia genética se asoció a un fenotipo de obesidad y de insulinoresistencia. Los sujetos con HFC en su conjunto presentaban como promedio un sobrepeso grado II e insulinemia marcadamente superior a la de los sanos. Un 16.36% de ellos tenían diabetes mellitus tipo 2 y un 9% glucemia basal alterada.

Las concentraciones plasmáticas de **triglicéridos**, **VLDLs**, **NEFAS**, **colesterol no HDL**, **colesterol total**, **colesterol LDL** y **Apo B** en los pacientes, a diferencia de los controles sanos, estaban elevadas y eran significativa y marcadamente mayores a las de éstos. Los individuos con HFC presentaban altas concentraciones de **Lp (a)** que tendían a ser mayores que las de los individuos sanos. Las concentraciones de **cHDL** en los pacientes eran significativamente inferiores (en un 32%) a las de los controles sanos.

TABLA 2. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES (CASOS VS CONTROLES)

	CASOS	CONTROLES	P
<b>Colesterol total ( mmol/l )</b>	6,85 ± 1,48	4,81 ± 0,91	0,000*
<b>Triglicéridos ( mmol/l )</b>	2,78 ± 2,01	0,87 ± 0,57	0,000*
<b>HDLc ( mmol/l )</b>	1,22 ± 0,37	1,61 ± 0,39	0,000*
<b>Colesterol no HDL ( mmol/l )</b>	5,63 ± 1,47	3,20 ± 0,88	0,000*
<b>LDLc ( mmol/l )</b>	4,36 ± 1,36	2,85 ± 0,97	0,000*
<b>Lp ( a ) ( mg/l )</b>	391,91 ± 472,78	223,56 ± 226,24	0,056 **
<b>cVLDL ( mmol/l )</b>	1,22 ± 0 89	0,49 ± 0,68	0,000*
<b>Apo B ( g/L)</b>	1,34 ± 0,31	0,77 ± 0,20	0,000*
<b>NEFA (mmol/l )</b>	0,73 ± 0,47	0,40 ± 0,20	0,000*

\* p <0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1)

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO DE LAS LDLs

Al analizar los pacientes según su fenotipo de las LDLs, un 43 % de ellos mostraban un fenotipo B (LDL ≤ 25.5 nm) de estas partículas y un 57 % un fenotipo A (LDL >25.5 nm) de las mismas. Los individuos con HFC, bien con fenotipo B (p 0,042) ó A (p 0,023) de partículas LDL, tenían más edad que los controles. La proporción de mujeres era mayor en los pacientes con fenotipo A de LDLs que aquellos con fenotipo B y que los controles.

TABLA 3. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICO-ANTROPOMÉTRICAS: HFC FENOTIPO B (LDL  $\leq$  25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL  $>$  25.5 NM) VS CONTROLES

	$\leq 25.5$	$> 25.5$	CONTROLES	P
Sexo ( H/M % )	71,4 / 28,6 (a)*	41/59 (a)*(c)*	60,2 / 39.8 (c)*	0,002*
Edad ( años )	49,86 $\pm$ 12,43 (b)*	49,30 $\pm$ 10,87 (c)*	44,14 $\pm$ 15,48 (b)*(c)*	0.004*
Talla ( m )	1,67 $\pm$ 0,10	1,66 $\pm$ 0,08	1,65 $\pm$ 0,08	0.299
Peso ( kg )	80,51 $\pm$ 12,88 (b)*	78,13 $\pm$ 13,71 (c)*	67,94 $\pm$ 11,66 (b)*(c)*	0,000*
Cintura ( cm )	98,52 $\pm$ 9,03 (b)*	97,53 $\pm$ 10,61 (c)*	88,90 $\pm$ 11,69 (b)*(c)*	0.000*
IMC ( kg/m <sup>2</sup> )	28,95 $\pm$ 3,86 (b)*	28,66 $\pm$ 4,25 (c)*	24,84 $\pm$ 3,86 (b)*(c)*	0.000*
Insulinemia ( pmol/l)	79,53 $\pm$ 61,43 (b)*	62,83 $\pm$ 37,13 (c)*	36,82 $\pm$ 29,13 (b)*(c)*	0.008*
HbA1c ( % )	5,72 $\pm$ 0,46 (b)*	5,62 $\pm$ 0,50 (c)**	5,31 $\pm$ 0,52 (b)*(c)**	0.014*

\* p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) Fenotipo B vs fenotipo A b) Fenotipo B vs Controles  
c) Fenotipo A vs controles

Los individuos con la dislipemia genética y fenotipo B ó A de las LDLs mostraban más **peso**, mayor **perímetro de cintura abdominal** y mayor **IMC** (p 0,000 en todos los casos) que los sujetos sanos, pero no se diferenciaban en estos parámetros entre ellos. La **insulinemia** era menor en los individuos sanos sin la dislipemia que en los pacientes con fenotipo B (p 0,030) ó A de las LDLs (p 0,029) y su **HbA1c** también era inferior a la de los pacientes con fenotipo B de LDLs (p 0,015) y tendía a ello respecto a los del fenotipo A de las mismas (p 0,059). Ambos grupos de pacientes no se diferenciaban entre sí en la insulinemia ni en la HbA1c.

Los sujetos con la dislipemia genética, independientemente de su fenotipo de LDL, tenían niveles de **triglicéridos**, **cVLDL**, **NEFAS**, **colesterol no HDL**, **colesterol total**, **cLDL** y de **apo B** más elevados que en los controles sanos (p 0,000 para todos ellos). En relación a las personas sin la dislipemia, los niveles de **Lp (a)** eran mayores en los pacientes con fenotipo A de LDL (p 0,027). Sus niveles de **cHDL** eran significativamente menores tanto en los de fenotipo B como en los de fenotipo A de LDL a los de los controles sanos (p 0,000 en ambos casos).

En relación a los pacientes con fenotipo A de LDL, aquellos con fenotipo B de las mismas mostraban niveles más elevados de **triglicéridos** (p 0,000), **VLDLs** (p 0,000) y **NEFAS** (p 0,016), mientras que sus niveles eran significativamente inferiores de **LDL** (p 0,032). Sus niveles de **cHDL**



eran significativamente menores (p 0,000) a los de aquellos con el fenotipo A de LDL y la dislipemia.

TABLA 4. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES: HFC FENOTIPO B (LDL  $\leq$  25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL  $>$  25.5 NM) VS CONTROLES

	$\leq 25.5$	$> 25.5$	CONTROLES	P
<b>Colesterol total ( mmol/l )</b>	6,87 $\pm$ 1,62 (b)*	6,84 $\pm$ 1,36 (c)*	4,81 $\pm$ 0,91 (b)*(c)*	0,000*
<b>Triglicéridos ( mmol/l )</b>	3,79 $\pm$ 2,58 (a)*(b)*	1,96 $\pm$ 0,69 (a)*(c)*	0,87 $\pm$ 0,57 (b)*(c)*	0,000*
<b>HDLc ( mmol/l )</b>	1,03 $\pm$ 0,25 (a)*(b)*	1,38 $\pm$ 0,38 (a)*(c)*	1,61 $\pm$ 0,39 (b)*(c)*	0,000*
<b>Colesterol no HDL ( mmol/l )</b>	5,83 $\pm$ 1,60 (b)*	5,46 $\pm$ 1,35 (c)*	3,20 $\pm$ 0,88 (b)*(c)*	0,000*
<b>LDLc ( mmol/l )</b>	4,08 $\pm$ 1,39 (a)*(b)*	4,58 $\pm$ 1,31 (a)*(c)*	2,85 $\pm$ 0,97 (b)*(c)*	0,000*
<b>Lp ( a ) ( mg/L )</b>	324,18 $\pm$ 385,70	446,31 $\pm$ 529,44 (c)*	223,56 $\pm$ 226,24 (c)*	0,079**
<b>cVLDL ( mmol/l )</b>	1,65 $\pm$ 1,17 (a)*(b)*	0,87 $\pm$ 0,27 (a)*(c)*	0,49 $\pm$ 0,68 (b)*(c)*	0,000*
<b>Apo B (g/L)</b>	1,33 $\pm$ 0,32 (b)*	1,34 $\pm$ 0,31 (c)*	0,77 $\pm$ 0,20 (b)*(c)*	0,000*
<b>NEFA (mmol/L )</b>	0,88 $\pm$ 0,64 (a)*(b)*	0,62 $\pm$ 0,24 (a)*(c)*	0,40 $\pm$ 0,20 (b)*(c)*	0,000*

\*p<0,05 \*\* Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) Fenotipo B vs fenotipo A b) Fenotipo B vs Controles c) Fenotipo A vs controles

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO LIPÍDICO

En base a los criterios diagnósticos establecidos de la HFC, en la cohorte de pacientes que analizamos en el estudio transversal el fenotipo lipídico era hipertrigliceridémico (HiperTG) en un 27.4 %, hipercolesterolémico (HiperCol) en un 49% y mixto en un 23.6%.

##### *a) Fenotipo hipertrigliceridémico*

Estos individuos tenían mayor **insulinemia** que los hipercolesterolémicos y los controles (p 0,000 en ambos casos), más **HbA1c** que los controles (p 0,014), más **peso** que los controles (p 0,000),

mayor **perímetro de cintura abdominal** que los del fenotipo mixto (p 0,014) y los controles (p 0,000) y más **IMC** que los controles (p 0,000).

Estos pacientes tenían menos **colesterol total** que los hipercolesterolémicos (p 0,000) y los del fenotipo mixto (p 0,000) pero más que los controles sanos (p 0,000), más **triglicéridos** que los hipercolesterolémicos y los controles sanos (p 0,000 en ambos casos), menos **HDL** que los hipercolesterolémicos (p 0,001) y los controles sanos (p 0,000), menos **colesterol no HDL** que los hipercolesterolémicos (p 0,003) y los del fenotipo mixto (p 0,000) y más que los controles (p 0,000). Su **cLDL** era menor al de los hipercolesterolémicos (p 0,000) y a los del fenotipo mixto (p 0,000), su **Lp (a)** menor a la de los hipercolesterolémicos (p 0,005) y a los del fenotipo mixto (p 0,018) y su **VLDL** mayor que los hipercolesterolémicos y los controles sanos (p 0,000 en ambos). Su **apo B** era menor a la de los hipercolesterolémicos y a la del fenotipo mixto (p 0,000 en ambos casos) y mayor a la de los controles (p 0,000) y sus **NEFAS** eran mayores a los de los hipercolesterolémicos (p 0,001) y a los de los controles (p 0,000).

**TABLA 5. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLOGICO-ANTROPOMÉTRICAS (CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES)**

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>Sexo (H/M %)</b>	69/31	46.2/53.8	56/44	60.2/39.8	0,204
<b>Edad (años)</b>	48.52 ±13.16	47.85 ±11.39	53.75 ± 9.73 (f)**	44.14 ± 15.48 (f)**	0,036*
<b>Talla (m)</b>	1.6755 ± 0.11	1.6627 ± 0.08	1.6658 ± 0.09	1.6538 ± 0.08	0,760
<b>Peso (kg)</b>	81.887 ± 15.63 (c)*	78.178 ± 12.22 (e)*	78.768 ± 13.24 (f)*	67.938 ± 11.65 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>Cintura (cm)</b>	100.75 ± 10.45 (b)*(c)*	97.32 ± 10.67 (e)*	94.57 ± 7.38 (b)*(f)**	88.88 ± 11.69 (c)*(e)*(f)**	0,000*
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.9590 ± 4.23 (c)*	28.4309 ± 3.70 (e)*	28.4068 ± 4.52 (f)*	24.8364 ± 3.86 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>Insulinemia (pmol/l)</b>	93.50 ± 59.65 (a)*(c)*	56.29 ± 44.84 (a)*(d)*(e)**	69.27 ± 35.10 (d)*(f)*	36.82 ± 29.13 (c)*(e)**(f)*	0,000*
<b>HbA1c (%)</b>	5.654 ± 0.45 (c)*	5.660 ± 0.51 (e)*	5.662 ± 0.48 (f)*	5.309 ± 0.52 (c)*(e)*(f)*	0,054**

\*p<0,05 \*\* tendencia a significación estadística (p <0,1) (a) HiperTG vs Hipercol, (b) HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

b) Fenotipo hipercolesterolémico

Los pacientes con este fenotipo tenían una **insulinemia** menor a la de los hipertriglicéridémicos (p 0,000) y a los del fenotipo mixto (p 0,040), tendiendo a ser mayor a la de los controles (p 0,056). En relación a los controles presentaban más **HbA1c** (p 0,007), mayor **peso** (p 0,002), más **perímetro de cintura abdominal** (p 0,001) y mayor **IMC** (p 0,000). Tenían niveles superiores de **colesterol total** a los de los hipertriglicéridémicos (p 0,000) y los de los controles sanos (p 0,000) pero inferiores a los del patrón mixto (p 0,000), así como niveles de **triglicéridos** menores a los del fenotipo mixto y a los hipertriglicéridémicos (p 0,000 en ambos casos) y mayores a los de los controles sanos (p 0,000).

Los pacientes con fenotipo hipercolesterolémico tenían niveles de **HDL** mayores a los hipertriglicéridémicos (p 0,001) y a los del fenotipo mixto (p 0,044) y menores a los de los controles sanos (p 0,006). Su **colesterol no HDL** era mayor al de los hipertriglicéridémicos (p 0,003) y a los controles (p 0,000) y menor a los del fenotipo mixto (p 0,000) y su **cLDL** era mayor al de los hipertriglicéridémicos y al de los controles sanos (p 0,000 en ambos casos). Su **Lp (a)** era mayor a la de los hipertriglicéridémicos (p 0,005) y a la de los controles sanos (p 0,014) y su **VLDL** menor que los hipertriglicéridémicos y los del fenotipo mixto y mayor al de los controles (p 0,000 en todos los casos). Su **apo B** era mayor a la de los hipertriglicéridémicos y a la de los controles y menor a la del fenotipo mixto (p 0,000 en todos los casos), mientras que los **NEFAS** eran menores a los hipertriglicéridémicos y a los del fenotipo mixto (p 0,001 en ambos casos) y mayores a los de los controles (p 0,000).

TABLA 6-A. COMPARATIVA DE VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES (CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES)

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>Triglicéridos (mmol/l)</b>	4.1707 ± 2.92 (a)*(c)*	1.5940 ± 0.38 (a)*(d)*(e)*	3.7560 ± 1.22 (d)*(f)*	0.8739 ± 0.57 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>HDLc (mmol/l)</b>	1.0421 ± 0.28 (a)*(c)*	1.3875 ± 0.40 (a)*(d)*(e)*	1.1332 ± 0.22 (d)*(f)*	1.6137 ± 0.39 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>cVLDL (mmol/l)</b>	1.5752 ± 0.75 (a)*(c)*	0.7417 ± 0.17 (a)*(d)*(e)*	1.8540 ± 1.35 (d)*(f)*	0.4863 ± 0.68 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>NEFA (mmol/L)</b>	0.9489 ± 0.76 (a)*(c)*	0.5769 ± 0.23 (a)*(d)*(e)*	0.8160 ± 0.31 (d)*(f)*	0.3964 ± 0.20 (c)*(e)*(f)*	0,000*

\*p <0,05 (a) HiperTG vs Hipercol, (b) HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

TABLA 6-A. COMPARATIVA DE VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES (CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES)

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>Colesterol total ( mmol/l )</b>	5.8014 ± 0.86 (a)*(b)*(c)*	6.9631 ± 1.25 (a)*(d)*(e)*	8.1836 ± 1.30 (b)*(d)*(f)*	4.8102 ± 0.91 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>Colesterol no HDL ( mmol/l )</b>	4.7593 ± 0.92 (a)*(b)*(c)*	5.5756 ± 1.30 (a)*(d)*(e)*	7.0504 ± 1.25 (b)*(d)*(f)*	3.1966 ± 0.88 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>LDLc ( mmol/l )</b>	3.0021 ± 0.75 (a)*(b)*	4.8329 ± 1.27 (a)*(e)*	5.1892 ± 0.70 (b)*(f)*	2.8515 ± 0.97 (e)*(f)*	0,000*
<b>Lp ( a ) ( mg/L )</b>	196.55 ± 265.78 (a)*(b)*	416.98 ± 485.57 (a)*(e)*	586.64 ± 578.03 (b)*(f)*	223.56 ± 226.24 (e)*(f)*	0,004*
<b>Apo B ( g/L )</b>	1.1052 ± 0.16 (a)*(b)*(c)*	1.3706 ± 0.31 (a)*(d)*(e)*	1.6196 ± 0.20 (b)*(d)*(f)*	0.7719 ± 0.20 (c)*(e)*(f)*	0,000*

\*p<0,05 (a) HiperTG vs Hipercol, (b)HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

c) *Fenotipo mixto*

Estos sujetos tenían más **insulinemia** que los hipercolesterolémicos (p 0,040) y los controles (p 0,007), más **HbA1c** que los controles (p 0,026), más **peso** que los controles (p 0,013), más **IMC** que los controles (p 0,008), menos **perímetro de cintura abdominal** que los hipertriglicéridémicos (p 0,014), y mostraban tendencia a mayor perímetro de cintura abdominal que los controles (p 0,058) y a mayor **edad** que los controles (p 0,052).

Tenían niveles de **colesterol total** significativamente mayores a todos los grupos restantes (p 0,000 en todos los casos) y niveles de **triglicéridos** superiores a los de los hipercolesterolémicos y a los de los sanos (p 0,000 en ambos casos). Sus niveles de **HDL** eran menores a los de los hipercolesterolémicos (p 0,044) y a los de los sanos (p 0,000) y su **colesterol no HDL** era mayor al de los hipertriglicéridémicos, al de los hipercolesterolémicos y al de los controles (p 0,000 en todos los casos). Su **cLDL** era mayor al de los hipertriglicéridémicos y al de los controles (p 0,000 en ambos casos) mientras que su **Lp (a)** era mayor a los hipertriglicéridémicos (p 0,018) y a la de los controles (p 0,023). Sus concentraciones de **VLDL** eran mayores que en los hipercolesterolémicos y que en los controles (p 0,000) y su **apo B** era mayor a la de los hipertriglicéridémicos, a la de los hipercolesterolémicos y a la de los controles (p 0,000 en todos los casos). Los **NEFAS** eran superiores a los de los hipercolesterolémicos (p 0,001) y los controles (p 0,000).

### CORRELACIONES:

A continuación detallamos en las tablas las correlaciones significativas o sus tendencias a las mismas (TC) de estos parámetros en nuestro estudio y si fueron halladas en el total de los casos, en las mujeres con la dislipemia (♀) o en los varones con la misma (♂). El conjunto de todas las correlaciones de ambos estudios se muestra en un anexo final en esta tesis.

### EDAD

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<b>TG</b> (0,465(♀)) <b>VLDL</b> ( 0,448(♀)) <b>NEFA</b> ( 0,364(♀)) <b>HbA1c</b> (0,324 (total)) <b>Adiponectina</b> (0,263 (total)) TC+: <b>Adiponectina</b> (0,310, p 0,062(♂))	<b>Apo A-II</b> (- 0,357(♂)) <b>PAF-AH total</b> (-0,281(total), -0,422(♀)) <b>PCR</b> (-0,385(♀)) <b>TGFβ</b> (-0,263(total),- 0,292(♂))

### PESO :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<b>Triglicéridos</b> (0,258(total),0,293(♂)) <b>Insulinemia</b> (0,374 (total),0,350(♂),0,560(♀)) <b>PAF-AH total</b> (0,404(♀)) TC+: <b>% HDL PAF-AH</b> ( 0,298, p 0,052(♂)) <b>TGFβ</b> (0,276 (total),0,355(♂)) <b>Leptina</b> (0,449(♂),0,496(♀))	<b>HDL</b> (-0,221(total)) <b>Lp (a)</b> ( -0,318(♂)) <b>HDL-Col</b> (-0,424(♂))

### PERIMETRO DE CINTURA ABDOMINAL :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<b>Triglicéridos</b> ( 0,253(total),0,314(♂)) <b>Insulinemia</b> (0,389(total),0,402(♂), 0,478(♀)) <b>HDL A-I</b> (0,357(♂)) <b>HDL PAF-AH</b> (0,282 (total),0,378(♂)) <b>% HDL PAF-AH</b> ( 0,457 (♂)) <b>PAF-AH total</b> (0,339(♀)) TC+: <b>PAF-AH total</b> (0,220, p 0,076 (total)) <b>Leptina</b> (0,548(♂), 0,409(♀)) <b>TGFβ</b> (0,260(total))	<b>Lp (a)</b> (-0,334 (total),-0,441(♂)) <b>HDL</b> (-0,284 (total)) <b>Apo A-I</b> (-0,407(♀)) TC-: <b>Apo A-II</b> (-0,370, p 0,053 (♀)). <b>HDL-Col</b> (-0,460(♂)) <b>▲Lag Phase</b> (-0,387(♂)) <b>Adiponectina</b> (-0,377(total)) TC-: <b>Adiponectina</b> (-0,366, p 0,051(♀))

IMC :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>TG</b> (0,261(total), 0,402(♂)) <b>NEFAS</b> (0,345(♂)) TC+: <b>NEFAS</b> (0,217, p 0,061(total)) <b>Insulinemia</b> (0,508(total),0,463(♂), 0,618(♀)) <b>HDL-Tg</b> (0,381(♂)) <b>PAF-AH total</b> (0,327(♀)) <b>Leptina</b> ( 0,444 (total), 0,522(♂) y 0,489 (♀))	<b>Lp(a)</b> ( -0,389(♂)) <b>HDL-Col</b> ( -0,511(♂)) TC-: <b>HDL-Col</b> ( -0,247, p 0,058 (total)) <b>Tamaño de LDL</b> (-0,385 (♂)) <b>▲Lag Phase</b> ( -0,360 (♂))

INSULINEMIA :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>NEFAS</b> ( 0,401(total), 0,484(♂)) <b>Peso</b> (0,374(total), 0,350 (♂),0,560 (♀)) <b>Cintura</b> ( 0,389 (total), 0,402 (♂),0,478(♀)) <b>IMC</b> ( 0,508(total), 0,463(♂), 0,618(♀)) <b>HDL-Tg</b> ( 0,238 (total)) TC+ : <b>HDL-Tg</b> (0,269, p 0,085(♂)) <b>HDL-NEFAS</b> (0,310 (total), 0,346(♂)) TC+: <b>HDL A-II</b> ( 0,300, p 0,063(♀)) <b>Leptina</b> (0,213(total),0,383 (♂),0,361((♀)) <b>IL-6</b> ( 0,205(total), 0,333(♂))	<b>Apo A-I</b> ( -0,210(total), -0,304 (♀)) <b>HDL-Col</b> ( -0,305(total), -0,345 (♂)) TC-: <b>LDL negativa</b> ( -0,259, p 0,083 (♂)) <b>GM-CSF</b> (-0,401 (total),-0,604 (♂)) <b>Adiponectina</b> (-0,283(total),-0,417 (♀))

HB A1C :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>NEFAS</b> (0,386(♀)) <b>Edad</b> (0,324 (total), 0,377 (♀)) TC+: <b>HDL-Fos</b> (0,314, p 0,066 (♀)) <b>TGFβ</b> (0,392(♂)) <b>MCP-1</b> ( 0,366(♀)) TC+: <b>IL-8</b> ( 0,292, p 0,054 (♀))	<b>Apo A-II</b> (-0,336 (♂)) TC-: <b>Apo A-I</b> (-0,235, p 0,087 (♂))

TRIGLICÉRIDOS:

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>NEFAS</b> (0.794 (total),0.847 (♂),0.512 (♀)) <b>Peso</b> (0,258 (total), 0,293(♂)) <b>Cintura</b> (0,253 (total), 0,314 (♂)) <b>IMC</b> (0,261(total), 0,402(♂)) <b>Edad</b> (0,465(♀)) <b>HDL-Tg</b> (0,822(total),0,842(♂),0,757 (♀)) <b>HDL-NEFA</b> (0,377 (total), 0,472 (♂)) <b>TC+:</b> <b>LDL oxidada</b> ( 0,270, p 0,061(♀)) <b>Leptina</b> (0,366( ♀)) <b>TC+:%HDL-PAF-AH</b> (0,259,p0,054 (♂))	<b>Tamaño de las LDLs</b> (-0,573(total),-0,525 (♂),-0,725 (♀)) <b>HDL-Col</b> ( -0,472 (total),-0,525 (♂), 0,441 (♀)) <b>Apo A-I</b> ( -0,306(♀)) <b>TC-: HDL A-I</b> (-0,213, p 0,051 (total)) <b>Adiponectina</b> ( -0,222 (total))

VLDL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>NEFAS</b> (0,340 (total), 0,297(♂),0,506(♀)) <b>Edad</b> ( 0,448 (♀)) <b>HDL PAF-AH</b> ( 0,201(total)) <b>HDL-Tg</b> (0,601 (total),0,541(♂),0,781(♀)) <b>HDL-NEFA</b> (0,220 (total)) <b>HDL-Fos</b> (0,221(total)) <b>TC+:</b> <b>LDL oxidada</b> (0,171, p 0,078 (total)) <b>TC+:</b> <b>▲Lag Phase</b> ( 0,179, p 0,071 (total)) <b>Leptina</b> ( 0,393(♀)) <b>TC+:</b> <b>GM-CSF</b> ( 0,513, p 0,088 (♂))	<b>Tamaño de LDLs</b> (-0,473 (total),-0,333 (♂), -0,762 (♀)). <b>HDL-Col</b> (-0,433 (♀)) <b>TC-: HDL-Col</b> (-0,211, p 0,054 (total)) <b>HDL A-I</b> ( -0,300 (total),-0,346 (♂)) <b>TC-: Apo A-I</b> ( -0,275, p 0,053(♀))

LP (A) :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño de LDL</b> ((0,203(total)) <b>Colesterol total</b> ( 0,252 (total), 0,341((♂)) <b>LDL</b> (0,291(total), 0,368 ((♂)) <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,226 (total), 0,330 (♂)) <b>HDL-Col</b> (0,277(total) (0,441(♂)) <b>TC+:</b> <b>HDL-Fos</b> (0,192, p 0,080 (total)) <b>LDL negativa</b> (0,698(total),0,450 ((♂)),0,827 (♀)) <b>▲Lag Phase</b> ( 0,383(♂)) <b>TC+:</b> <b>▲Lag Phase</b> (0,165, p 0,096 (total))	<b>NEFAS</b> ( -0,073(♂)) <b>Peso</b> (-0,318(♂)) <b>Cintura</b> (-0,334 (total) (-0,441(♂)) <b>IMC</b> (- 0,389 (♂)) <b>TC-: HDL A-I</b> (-0,258, p 0,087 (♂))

NEFAS ( ácidos grasos libres no esterificados):

Correlaciones +	Correlaciones -
<p><b>TG</b> (0,794 (total), 0,847(♂), 0,512 (♀))  <b>VLDL</b> (0,340 (total), 0,297(♂), 0,506(♀))                      TC+: <b>colesterol no HDL</b> (0,172, p 0,082 (total), 0,231 p 0,085(♂))  <b>Edad</b> ( 0,364(♀)  <b>IMC</b> (0,345(♂))                      TC+: <b>IMC</b> ( 0,217 (total), p 0,061)  <b>Insulinemia</b> ( 0,401(total), 0,484(♂))  <b>HbA1c</b> (0,386 (♀))  <b>HDL-Tg</b> ( 0,544 (total),0,573(♂),0,407(♀))  <b>HDL-NEFA</b> ( 0,418 (total), 0,567(♂))  <b>Apo A-II</b> (♂ 0,300)  <b>LDL oxidada</b> ( ♀, 0,382)                      TC+ : <b>Inh. Rf</b> (♀, 0,270, p 0,079)</p>	<p><b>Tamaño de LDLs</b> (-0,359 (total),-0,293 (♂), -0,574 (♀))  <b>cLDL</b> (-0,199 (total))  <b>Talla</b> (♀, -0,360)  <b>Lp (a)</b> (♂,-0,073)  <b>HDL-Col</b> (-0,325 (total), -0,380(♂))  <b>cHDL</b> ( -0,254 (total))                      TC-: <b>HDL</b> (♂,-0,258, p 0,052 y ♀ -0,274, p 0,066)  <b>Adiponectina</b> (-0,222 (total))                      TC-: <b>Adiponectina</b> (♀ -0,281, p 0,061).</p>

COLESTEROL TOTAL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<p><b>Lp (a)</b> ( 0,252 (total), 0,341 (♂))  <b>Apo B</b> (0,910(♀))  <b>HDL-Col</b> (0,282 (total),0,408(♂))  <b>PAF-AH total</b> (0,364 (total), 0,383(♂), 0,416(♀))  <b>HDL PAF-AH</b> (0,285(total),0,344(♂), 0,287 p 0,05(♀))  <b>LDL oxidada</b> ( 0,363 (total), 0,371(♂),0,321 (♀))  <b>LDL negativa</b> (0,212 (total), 0,289(♂))  <b>▲Lag Phase</b> (0,218 (total))                      TC+: <b>▲Lag Phase</b> (0,261, p 0,076(♀))  <b>GM-CSF</b> ( 0,654(♀))                      TC+: <b>GM-CSF</b> (0,373, p 0,061(total), 0,556, p 0,061(♂))                      TC+: <b>Adiponectina</b> (0,175, p 0,070 (total), 0,270, p 0,060(♀))</p>	<p><b>HDL A-I</b> (-0,355(♂))  <b>IL-8</b> (-0,289(♀))</p>



COLESTEROL LDL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño de LDLs</b> (0,297(total),0,295(♂)) <b>Lp (a)</b> (0,291(total),0,368(♂)) <b>Apo B</b> (0,889(♀)) <b>PAF-AH total</b> (0,420(total),0,453(♂),0,479(♀)) <b>HDL PAF-AH</b> (0,219 (total),0,311(♀)) <b>HDL-Col</b> (0,379 (total),0,585(♂)) <b>LDL oxidada</b> (0,258 (total)) <b>TC+:LDL oxidada</b> ( 0,247, p 0,087(♀)) <b>TC+:LDL negativa</b> (0,190, p 0,070 (total)) <b>Adiponectina</b> (0,215 (total)) <b>PCR</b> ( 0,312(♂)) <b>GM-CSF</b> ( 0,584(♀))	<b>NEFAs</b> ( -0,199 (total)) <b>% HDL PAF-AH</b> (-0,275(total),-0,280(♂)) <b>TC-: % HDL PAF-AH</b> (-0,264, p0,073(♀)) <b>HDL-Tg</b> (-0,395(total),-0,501(♂))

APO B:

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Colesterol total</b> (0,910 (♀)) <b>Colesterol no HDL</b> (0,923 (♀)) <b>LDL</b> (0,889 (♀)) <b>PAF-AH total</b> (0,490 (♀)) <b>HDL PAF-AH</b> (0,302(♀)) <b>▲Lag Phase</b> (0,248(total), 0,303(♂)) <b>TC+: ▲Lag Phase</b> (0,247, p 0,094 (♀)) <b>Inh. Rf</b> (0,290 (♂)) <b>TC+: Inh.Rf</b> (0,191, p 0,053 (total)) <b>LDL oxidada</b> (0,304(♀)) <b>TC+ : LDL negativa</b> (0,257, p 0,074 (♂)) <b>GM-CSF</b> (0,409 (total)) <b>TC+: GM-CSF</b> (0,535, p 0,073(♂),0,492, p 0,074(♀)) <b>MCP-1</b> (0,227(total),0,300(♂))	<b>% HDL PAF-AH</b> ( -0,301(♀)) <b>IL-8</b> ( -0,292(♀))

cHDL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño de LDL</b> (0,488 (total),0,355 (♂), 0,479 (♀)) <b>TC+: Talla</b> ( 0,276, p 0,066 (♂)) <b>HDL-Col</b> ( 0,461 (total),0,517 (♂),0,465 (♀)) <b>Apo A-I</b> (0,607 (total), 0,430(♂), 0,884 (♀)) <b>Apo A-II</b> (0,479 (total),0,586(♂), (0,372(♀)) <b>HDL A-I</b> (0,237 (total)) <b>Adiponectina</b> (0,282 (total), 0,390 (♀)) <b>TC+: GM-CSF</b> (0,507, p 0,064 (♀))	<b>NEFAs</b> (-0,254 (total)) <b>TC-: NEFAs</b> (-0,258, p 0,052(♂), -0,274, p 0,066(♀)) <b>Peso</b> (-0,221 (total)) <b>Cintura</b> (-0,284 (total)) <b>HDL-Tg</b> (-0,558 (total),-0,541(♂),-0,583 (♀)) <b>HDL-NEFA</b> ( -0,269 (total), -0,337(♂)) <b>HDL A-II</b> ( -0,295 (total), -0,390(♀)) <b>PAF-AH total</b> (-0,246 (total), -0,446(♀)) <b>HDL PAF-AH</b> (-0,223 (total),-0,319(♀)) <b>Inh. Rf</b> ( -0,364(♂)) <b>PCR</b> (-0,314, p 0,036(♀)) <b>MCP-1</b> (-0,372(♂)) <b>TC-: IL-8</b> (-0,229, p 0,081(♂))

## **2. PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS**

Estas alteraciones fenotípicas y en el metabolismo lipídico condicionan por un lado un estado inflamatorio crónico de bajo grado y por otro un estado prooxidativo. Las concentraciones superiores de proteína C reactiva (PCR) son un reflejo del proceso inflamatorio subyacente en los individuos con hiperlipemia familiar combinada. No se evidenciaron diferencias significativas en los niveles de IL-6, IL-8 o TGFβ con respecto a los individuos sin la dislipemia. Por otro lado, las concentraciones de MCP-1 y GM-CSF fueron mayores en los individuos con hiperlipemia familiar combinada. Por lo que respecta a las adipocitoquinas, los niveles de adiponectina eran inferiores en las personas con la dislipemia genética pero no se evidenciaron diferencias significativas respecto a los controles en los de leptina.

### COHORTE TOTAL DE PACIENTES

TABLA 7. COMPARATIVA PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (CASOS VS CONTROLES)

	CASOS	CONTROLES	P
<b>PCR (mg/l)</b>	3,44 ± 4,47	2,09 ± 3,00	0,000*
<b>IL-6 (ng/l)</b>	1,23 ± 1,05	1,17 ± 0,94	0,825
<b>IL-8 (ng/l)</b>	13,94 ± 11,07	12,54 ± 11,19	0,446
<b>MCP-1 (ng/l)</b>	194,19 ± 90,94	145,84 ± 74,25	0,000*
<b>TGFβ (ng/l)</b>	41,63 ± 44,76	39,32 ± 33,65	0,605
<b>GM-CSF (ng/ml)</b>	12,43 ± 8,53	9,11 ± 5,23	0,000*
<b>Leptina (ng/L)</b>	8329 ± 9346	6866 ± 5719	0,513
<b>Adiponectina (ng/ml)</b>	3461 ± 2659	5211 ± 3376	0,000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p<0,1)

Las personas con HFC presentaban concentraciones significativamente más elevadas de **PCR** pero sus niveles de **interleukina-6**, **IL-8** y **TGF-β** no diferían de los de los sanos. Los niveles plasmáticos de quimioquinas leucocitarias (**MCP-1** y **GM-CSF**) eran superiores a las de los

controles. Sus concentraciones de **adiponectina** eran significativamente inferiores y las de **leptina** no variaban respecto a las de los individuos sanos.

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO DE LAS LDLs

TABLA 8. COMPARATIVA PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS: HFC FENOTIPO B (LDL  $\leq$  25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL  $>$  25.5 NM) VS CONTROLES

	$\leq 25.5$	$> 25.5$	CONTROLES	P
<b>PCR (mg/l)</b>	3,53 $\pm$ 5,22 (b)*	3,38 $\pm$ 3,90 (c)*	2,09 $\pm$ 3,00 (b)*(c)*	0.001*
<b>IL-6 (ng/l)</b>	1,29 $\pm$ 1,15	1,18 $\pm$ 0,99	1,17 $\pm$ 0,94	0.816
<b>IL-8 (ng/l)</b>	13,61 $\pm$ 10,71	14,20 $\pm$ 11,44	12,54 $\pm$ 11,19	0.717
<b>MCP-1 (ng/l)</b>	190,77 $\pm$ 97,76 (b)*	196,93 $\pm$ 85,85 (c)*	145,84 $\pm$ 74,25 (b)*(c)*	0.000*
<b>TGF<math>\beta</math> (ng/l)</b>	49,63 $\pm$ 52,72	35,42 $\pm$ 36,73	39,32 $\pm$ 33,65	0.395
<b>GM-CSF (ng/ml)</b>	14,33 $\pm$ 13,69 (b)*	11,25 $\pm$ 2,25 (c)*	9,11 $\pm$ 5,23 (b)*(c)*	0.001*
<b>Leptina (ng/l)</b>	8058,12 $\pm$ 12458 (a)*	8373,57 $\pm$ 6207 (a)*(c)**	6866 $\pm$ 5719 (c)**	0.063**
<b>Adiponectina (ng/ml)</b>	3094 $\pm$ 2953 (a)*(b)*	3754,72 $\pm$ 2384 (a)*(c)*	5211 $\pm$ 3376 (b)*(c)*	0.000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a Fenotipo B vs fenotipo A b) Fenotipo B vs Controles c)Fenotipo A vs controles

Tanto los sujetos con la dislipemia y fenotipo A de las LDLs (p 0,001) como aquellos con fenotipo B de las mismas (p 0,021) tenían más **PCR** que los controles sanos. Ambos fenotipos no diferían significativamente de ellos en sus niveles de **IL-6**, de **IL-8** ni de **TGF $\beta$** .

Los pacientes tenían concentraciones claramente superiores de **MCP-1** (p 0,007 (fenotipo B), p 0,000 (fenotipo A)) y de **GM-CSF** (fenotipo B (p 0,012) y fenotipo A (p 0,000)) a las de las personas sin la dislipemia. Los niveles de **adiponectina** eran significativamente inferiores en los pacientes (fenotipo B (p 0,000),fenotipo A (p 0,003)), mientras los de **leptina** tendían a ser superiores en los del fenotipo A de LDL (p 0,082) a de los de los controles sanos.

En relación a los pacientes con fenotipo A de las LDLs, aquellos con fenotipo B de las mismas mostraban concentraciones de **leptina** menores (p 0,021) y de **adiponectina** inferiores (p 0,032).

## PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO LIPÍDICO

### a) Fenotipo hipertrigliceridémico

Los individuos con este fenotipo tendían a tener más **PCR** que los controles (p 0,079), menos **MCP-1** que los del fenotipo mixto (p 0,003), tendía a niveles menores de **GM-CSF** que los del fenotipo mixto (sign 0,092) y eran significativamente mayores a los de los controles (p 0,038), y tenían menos **adiponectina** que los hipercolesterolémicos (sign 0,002), que los del fenotipo mixto (p 0,011) y que los controles (p 0,000).

TABLA 9. COMPARATIVA PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES)

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	ANOVA
<b>PCR (mg/l)</b>	2.8700 ± 4.42 (c)**	3.3294 ± 4.23 (e)*	3.6195 ± 4.60 (f)*	2.0873 ± 3.00 (c)**(e)*(f)*	0,008*
<b>IL-6 (ng/l)</b>	1.0308 ± 0.62	1.3237 ± 1.17	1.2322 ± 1.24	1.1723 ± 0.94	0,962
<b>IL-8 (ng/l)</b>	14.0719 ± 12.26	13.3221 ± 9.70	13.2812 ± 10.91	12.5427 ± 11.19	0,942
<b>MCP-1 (ng/l)</b>	157.0581 ± 64.09 (b)*	186.0592 ± 89.20 (d)*(e)*	233.8772 ± 95.27 (b)*(d)*(f)*	145.8380 ± 74.26 (e)*(f)*	0,000*
<b>TGFb (ng/l)</b>	46.6746 ± 60.05	42.2028 ± 39.42	36.5683 ± 40.32	39.3206 ± 33.65	0,754
<b>GM-CSF (ng/ml)</b>	10.5200 ± 2.62 (b)** (c)*	10.9845 ± 1.63 (d)*(e)*	20.6680 ± 18.01 (b)**(d)*(f)*	9.1087 ± 5.23 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>Leptina (ng/l)</b>	8233.26 ± 9975.54	8228.98 ± 6734.23	9428.41 ± 13399.88	6865.60 ± 5719.06	0,738
<b>Adiponectina (ng/ml)</b>	2288.63 ± 1564.19 (a)*(b)*(c)*	4122.06 ± 3190.09 (a)*(e)*	3559.93 ± 2093.33 (b)*(f)*	5210.54 ± 3375.81 (c)*(e)*(f)*	0,000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p<0,1) a) HiperTG vs Hipercol, (b)HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

### b) Fenotipo hipercolesterolémico

Estos pacientes tenían más **PCR** que los controles sanos (p 0,005), menos **MCP-1** que los del fenotipo mixto (p 0,037) y más que los controles sanos (p 0,010), menos **GM-CSF** que los del

fenotipo mixto (p 0,020) y más que los controles sanos (p 0,001), más **adiponectina** que los hipertriglicéridémicos (p 0,002) y menos que los controles (p 0,032).

c) *Fenotipo mixto*

Las personas con HFC y este fenotipo tenían más **PCR** que los controles sanos (p 0,020), más **MCP-1** que los hipertriglicéridémicos (p 0,003), los hipercolesterolémicos (p 0,037) y los controles sanos (p 0,000), tendían a más **GM-CSF** que los hipertriglicéridémicos (p 0,092) y sus niveles eran significativamente mayores a los de los hipercolesterolémicos (p 0,020) y a los de los controles sanos (p 0,001). Asimismo mostraban más **adiponectina** que los hipertriglicéridémicos (p 0,011) y menos que los controles (p 0,015).

CORRELACIONES:

A continuación detallamos en la tabla las correlaciones significativas de estos parámetros en nuestro estudio.

PCR

Correlaciones +	Correlaciones -
cLDL (0.312 (♂))	Talla (-0.308 (total), -0.437 (♀)) Edad (-0.385 (♀)) HDL (-0,314, p 0,036 (♀)) TC-: PON-1 (-0,195, p 0.071 (total))

IL-6

Correlaciones +	Correlaciones -
Insulinemia (0,205(total), 0,333(♂)) PON-1 (0,212 (total), 0,303(♂), 0,303(♀)) TC+: ▲Lag Phase (0,263, p 0,088 (♀))	TC-: Apo A-I (-0,262, p 0,079 (♀))

IL-8

Correlaciones +	Correlaciones -
TC+: HbA1c (0,292, p 0,054 (♀)) HDL-NEFA (0,318 (♂)) Inh. Rf (0,380(♂))	TC-: Tamaño de LDL (-0,233, p 0,078 (♂)) Colesterol total (-0,289 (♀)) Colesterol no HDL (-0,285 (♀)) Apo B (-0,292(♀)) TC-: cHDL (-0,229, p 0,081 (♂)) TC-: LDL oxidada (-0,183, p 0,058 (total), -0,280, p 0,051(♀))

TGF-β

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Talla</b> (0,350 (total), 0,331(♂)) <b>Peso</b> (0,276 (total), 0,355 (♂)) <b>Cintura</b> (0,260 (total)) <b>HbA1c</b> (0,392 (♂)) TC+: <b>Inh. Rf</b> (0,247, p 0,084(♂))	<b>Edad</b> (-0,263(total),-0,292 (♂))

MCP-1 :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Apo B</b> (0,227 (total), 0,300 (♂)) <b>HbA1c</b> (0,366 (♀)) <b>HDL A-II</b> (0,330 (♀))	<b>HDL</b> (-0,372 (♂)) TC-: <b>HDL</b> (-0,174, p 0,072 (total)) TC-: <b>HDL A-I</b> (-0,315, p 0,054 (♀)) TC-: <b>Apo A-II</b> (-0,248, p 0,086 (♂))

GM-CSF :

Correlaciones +	Correlaciones -
TC+ : <b>VLDL</b> ( 0,513, p 0,088 (♂)) <b>Colesterol total</b> ( 0,654 (♀)) TC+ <b>Colesterol total</b> ( 0,373, p 0,061 (total), 0,556, p 0,061(♂)) <b>Apo B</b> ( 0,409 (total)) TC+: <b>Apo B</b> ( 0,535, p 0,073 (♂), 0,492, p 0,074 (♀)) <b>cLDL</b> ( 0,584 (♀)) TC+: <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,372, p 0,061 (total) , 0,462, p 0,096 (♀)) TC+: <b>HDL</b> ( 0,507, p 0,064 (♀)) TC+: <b>Apo A-I</b> ( 0,493, p 0,073 (♀)) <b>LDL oxidada</b> ( 0,407 (total),0,635 (♂)) <b>▲Lag Phase</b> ( 0,429 (total), 0,706 (♂))	<b>Insulinemia</b> (-0,401(total), -0,604(♂)) <b>HDL-NEFA</b> (-0,610 (total)) TC-: <b>HDL-NEFA</b> (-0,745, p 0,055 (♀)) TC-: <b>HDL-Tg</b> (-0,539, p 0,071 (total)) TC-: <b>HDL-Fos</b> (-0,714, p 0,071 (♀))

ADIPONECTINA :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño de LDL</b> (0,297 (♀)) TC+: <b>Tamaño LDL</b> (0,177, p 0,071 (total)) <b>LDL</b> (0,215 (total)) TC+: <b>Colesterol total</b> (0,175, p 0,070 (total), 0,270, p 0,060 (♀)) <b>Edad</b> ( 0,263(total)) TC+: <b>Edad</b> (0,310, p 0,062 (♀)) <b>HDL A-I</b> (0,240 (total)) <b>HDL</b> (0,282 (total), 0,390 (♀)) <b>Apo A-I</b> (0,231(total), 0,354 (♀)) <b>HDL-Col</b> ( 0,259 (total) y 0,422 (♂))	<b>NEFA</b> ( -0,222 (total)) TC-: <b>NEFA</b> ( -0,281, p 0,061 (♀)) <b>Triglicéridos</b> (-0,222 (total)) <b>Cintura</b> (-0,377 (total)) TC-: <b>Cintura</b> (- 0,366, p 0,051 (♀)) <b>Insulinemia</b> ( -0.283 (total), -0,417 (♀)) TC-: <b>Apo A-II</b> (-0,273, p 0,057(♂)) <b>HDL-Tg</b> ( -0,303 (total), -0,337(♂)) <b>HDL-NEFA</b> (-0,238 (total), -0,310 (♂))

LEPTINA :

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Triglicéridos</b> (0,366 (♀)) <b>VLDL</b> ( 0,393 (♀)) <b>IMC</b> ( 0,444 (total), 0,522 (♂), 0,489 (♀)) <b>Peso</b> (0,449 (♂),0,496 (♀)) <b>Cintura</b> ( 0,548 (♂), 0,409 (♀)) <b>Insulinemia</b> (0,213 (total),0,383 (♂),0,361(♀)) <b>LDL oxidada</b> (0,330(total),0,258 (♂),0,302(♀))	TC-: <b>Tamaño de LDL</b> (-0,259, p 0,079 (♀)) <b>Talla</b> (-0,280 (total)) TC-: <b>▲Lag Phase</b> (-0,237, p 0,082 (♂))

### 3. MODIFICACIONES DE LAS LDLs

Una de las características más significativas de este trastorno lipídico es el incremento del fenotipo B en las partículas de cLDL, siendo estas lipoproteínas pequeñas y densas. La HFC se asociaba a un mayor grado de modificaciones oxidativas de estas partículas.

#### COHORTE TOTAL DE PACIENTES

El **tamaño medio de las LDLs** era significativamente menor en los sujetos con la dislipemia genética que en los individuos sanos. Los pacientes con HFC tenían más **LDL oxidada** que los controles sanos sin diferir de ellos en sus concentraciones de **LDL negativa**.

TABLA 10. COMPARATIVA MODIFICACIONES DE LAS LDLs (CASOS VS CONTROLES)

	CASOS	CONTROLES	P
<b>Tamaño LDL ( nm)</b>	25,54 ± 0,61	26,32 ± 0,26	0,000*
<b>LDL negativa ( %)</b>	6,47 ± 2,63	6,03 ± 1,97	0,244
<b>LDL oxidada ( mUI/l)</b>	83,15 ± 21,56	50,82 ± 19,77	0,000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1)

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO DE LAS LDLs

Un 43 % de los pacientes con HFC tenían fenotipo B de LDL. Los sujetos con HFC y fenotipo B de las LDLs tenían un **tamaño medio de las LDLs** claramente inferior al de los controles sanos (p 0,000), con diferencias más marcadas que en la cohorte total de pacientes, y sus niveles de **LDL oxidada** eran mayores (p 0,000).

Los pacientes con fenotipo A de las LDLs tenían un menor **tamaño de LDLs** (p 0,001) y significativamente más **LDL oxidada** (p 0,000) que los controles.

La **LDL negativa** no fue diferente entre los pacientes, independientemente de su fenotipo de LDL, y las personas sin la dislipemia.

De modo lógico, el tamaño de las LDLs era menor entre los pacientes en aquellos con fenotipo B de las mismas (p 0,000) pero no diferían en las otras modificaciones de las LDLs.



TABLA 11. COMPARATIVA MODIFICACIONES DE LAS LDLs: HFC FENOTIPO B (LDL < 25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL > 25.5 NM) VS CONTROLES

	≤ 25.5	> 25.5	CONTROLES	P
<b>Tamaño LDL (nm )</b>	25,02±0,47 (a)*(b)*	25,93 ± 0,35 (a)*(c)*	26,32± 0,26 (b)*(c)*	0.000*
<b>LDL negativa ( %)</b>	6,35 ± 1,75	6,56 ± 3,10	6,03 ± 1,97	0.424
<b>LDL oxidada (mUI/l )</b>	85,23 ± 22,20 (b)*	81,49 ± 21,06 (c)*	50,82 ± 19,77 (b)*(c)*	0.000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) Fenotipo B vs fenotipo A b) Fenotipo B vs Controles c) Fenotipo A vs controles

### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO LIPÍDICO

#### a) Fenotipo hipertrigliceridémico

Estos individuos tenían menor **tamaño de sus LDLs** que los hipercolesterolémicos (p 0,000) y los controles sanos (p 0,000). Sus niveles de **LDL oxidada** tendían a ser menores que los del fenotipo mixto (p 0,053) y eran significativamente mayores que los de los controles (p 0,000).

#### b) Fenotipo hipercolesterolémico

Los pacientes con la dislipemia y este fenotipo tenían mayor **tamaño de sus LDLs** que los hipertrigliceridémicos (p 0,000) y que los del fenotipo mixto (p 0,004) y tendían a tener menor tamaño de estas partículas que los controles (p 0,051). Sus niveles de **LDL oxidada** eran menores que los del fenotipo mixto (p 0,009) y mayores a los de los controles (p 0,000).

#### c) Fenotipo mixto

Los sujetos con HFC y este fenotipo tenían menor **tamaño de las LDLs** que los hipercolesterolémicos (p 0,004) y que los controles sanos (p 0,000), tendían a más **LDL negativa** que los controles sanos (p 0,081). Su concentración de **LDL oxidada** tendía a ser mayor que la de los hipertrigliceridémicos (p 0,053), era significativamente mayor que la de los hipercolesterolémicos (p 0,009) y que la de los controles sanos (p 0,000).

TABLA 12. COMPARATIVA MODIFICACIONES DE LAS LDL (CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES)

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>Tamaño LDL (nm)</b>	25.1250 ± 0.71 (a)*(c)*	25.8358 ± 0.45 (a)*(d)*(e)**	25.3688 ± 0.44 (d)*(f)*	26.3191 ± 0.26 (c)*(e)**(f)*	0,000*
<b>LDL negativa (%)</b>	5.9735 ± 1.97	6.5827 ± 3.20	6.9283 ± 2.06 (f)**	6.0313 ± 1.97 (f)**	0,358
<b>LDL oxidada (mUI/l)</b>	80.4389 ± 15.19 (b)**(c)*	79.0683 ± 22.71 (d)*(e)*	96.2044 ± 21.77 (b)**(d)*(f)*	50.8167 ± 19.77 (c)*(e)*(f)*	0,000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) HiperTG vs Hipercol, (b)HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

CORRELACIONES:

A continuación detallamos en las tablas las correlaciones significativas de estos parámetros en nuestro estudio.

MODIFICACIONES OXIDATIVAS DE LDL: LDL NEGATIVA- LDL OXIDADA

Correlaciones +	Correlaciones -
<p><u>LDL Negativa:</u>  <b>Colesterol total</b> ( 0,212 (total), 0,289 (♂))  <b>Colesterol no HDL</b> (0,210(total), 0,291(♂))                      TC+: <b>LDL</b> ( 0,190, p 0,070 (total))  <b>Lp (a)</b> ( 0,698 (total), 0,450 (♂), 0,827 (♀))</p> <p><u>LDL Oxidada:</u>                      TC+: <b>VLDL</b> ( 0,171, p 0,078 (total))                      TC+: <b>TG</b> ( 0,270, p 0,061 (♀))  <b>Colesterol total</b> (0,363 (total), 0,371 (♂), 0,321 (♀))  <b>Colesterol no HDL</b> (0,349(total), 0,366 (♂), 0,334 (♀))  <b>LDL</b> ( 0,258 (total))                      TC+: <b>LDL</b> ( 0,247, p 0,087 (♀))  <b>Apo A-I</b> ( 0,272 (total), 0,422 (♂))  <b>PON-1</b> ( 0,347 (♀))  <b>GM-CSF</b> (0,407 (total), 0,635 (♂))  <b>Leptina</b> (0,330 (total), 0,258(♂), 0,302 (♀))</p>	<p><u>LDL Negativa:</u>                      TC-: <b>Insulinemia</b> ( -0,259, p 0,083 (♂))</p> <p><u>LDL Oxidada:</u>  <b>Talla</b> ( -0,275(total), -0,404 (♀))                      TC-: <b>IL-8</b> ( -0,183, p 0,058 (total), -0,280, p 0,051 (♀))</p>

TAMAÑO DE LDL:

**Correlaciones +**

**Correlaciones -**

<p><b>LDL</b> ( 0,297(total), 0,295 (♂)) <b>Lp (a)</b> ( 0,203(total)) <b>HDL</b> ( 0,488 (total), 0,355 (♂), 0,479 (♀)) <b>HDL-Col</b> (0,272 (total), 0,380 (♀)) <b>HDL A-I</b> ( 0,273 (total)) TC+: <b>Apo A-I</b> ( 0,182, p 0,060 (total), 0,274, p 0,059 (♀)) <b>Adiponectina</b> (0,297 (♀)) TC+: <b>Adiponectina</b> (0,177, p 0,071 (total))</p>	<p><b>Triglicéridos</b> (-0,573 (total), -0,525 (♂), -0,725(♀)) <b>VLDL</b> (-0,473(total),-0,333(♂),-0,762 (♀)) <b>IMC</b> ( -0,385 (♂)) <b>HDL-Tg</b> (-0,693(total),-0,706(♂),-0,705(♀)) TC-: <b>HDL-Fos</b> (-0,197, p 0,078 (total)) TC-: <b>HDL-NEFAs</b> ( -0,206, p 0,065 (total)) <b>▲Lag Phase</b> (-0,301(total), -0,310 (♂)) <b>Inh. Rf</b> (-0,270 (♂)) TC-:<b>LDL oxidada</b> (-0,252, p 0,088 (♀)) TC -: <b>IL-8</b> ( -0,233, p 0,078 (♂)) TC-: <b>leptina</b> ( -0,259, p 0,079 (♀))</p>
--	---

#### **4. MODIFICACIONES CUALITATIVAS Y FUNCIONALES DE LAS HDLS**

Las alteraciones en el metabolismo lipídico, el fenotipo asociado, el estado prooxidativo y el proceso inflamatorio de bajo grado condicionan modificaciones en las lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Además de las diferencias cuantitativas globales de las HDLs, se evidenciaron modificaciones significativas en su lipidoma, en su proteoma y en la capacidad antioxidativa de estas partículas.

##### COHORTE TOTAL DE PACIENTES

TABLA 13. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LAS HDLS (CASOS VS CONTROLES)

	CASOS	CONTROLES	P
<b>Apo A-I (g/L)</b>	1,51 ± 0,42	1,53 ± 0,31	0,208
<b>Apo A-II (mg/dl)</b>	39,39 ± 8,39	34,70 ± 5,51	0,000*
<b>HDL-col (%)</b>	16,11 ± 2,55	17,68 ± 2,38	0,000*
<b>HDL-Tg (%)</b>	5,45 ± 2,20	3,16 ± 1,21	0,000*
<b>HDL-fos (%)</b>	31,70 ± 3,65	33,22 ± 3,56	0,017*
<b>HDL-NEFA (%)</b>	0,86 ± 0,60	1,26 ± 1,93	0,272
<b>HDL A-I (%)</b>	31,88 ± 5,82	33,74 ± 5,51	0,013*
<b>HDL A-II (%)</b>	14,86 ± 4,85	12,19 ± 2,91	0,000*
<b>PAF-AH total (μmol/min/ml)</b>	26,60 ± 9,34	19,12 ± 6,25	0,000 *
<b>HDL PAF-AH (μmol/min/ml)</b>	11,20 ± 3,77	8,81 ± 3,80	0,000*
<b>% HDL PAF-AH (%)</b>	43,44 ± 11,72	46,21 ± 15,29	0,171
<b>PON 1 (μmol/min/ml)</b>	70,62 ± 26,45	75,91 ± 25,67	0,173
<b>▲ Lag Phase (min)</b>	79,07 ± 27,85	65,59 ± 22,13	0,000*
<b>Inhib. Rf (%)</b>	24,76 ± 7,75	22,61 ± 7,62	0,056**

\*p < 0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p < 0,1)

En relación a las personas sin la dislipemia, los individuos con HFC presentaban una menor **proporción de apo A-I (HDL A-I)** y una mayor **proporción de apo A-II (HDL A-II)** en sus HDLs. Sus concentraciones plasmáticas de **apo A-II** eran mayores a las de los controles sin diferir significativamente en las de **apo A-I**.

Por lo que respecta a su composición lipídica, sus HDLs contenían más **triglicéridos (HDL-Tg)**, menos **colesterol (HDL-Col)** y menos **fosfolípidos (HDL-Fos)** mientras que su contenido en **NEFAs (HDL-NEFA)** no difería del de los controles sanos.

Los pacientes con HFC presentaban una mayor **actividad PAF-AH total** y una mayor **actividad PAF-AH en sus HDLs (HDL PAF-AH)** que los sujetos sin la dislipemia, sin diferenciarse de ellos en la proporción de PAF-AH en sus HDLs (**% HDL PAF-AH**) ni en la actividad **PON-1**.

Los individuos con hiperlipemia familiar combinada mostraron un mayor **incremento de la fase de latencia (lag Phase) de oxidación** con la adición de sus HDLs a sus LDLs y sus HDLs tendían a inducir una mayor **inhibición del Rf** de las LDLs (p 0,056\*) que los controles sanos.

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO DE LAS LDLs

TABLA 14. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LAS HDLs: HFC FENOTIPO B (LDL  $\leq$  25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL  $>$  25.5 NM) VS CONTROLES

	$\leq 25.5$	$>25.5$	CONTROLES	P
<b>Apo A-I (g/L)</b>	1,43 $\pm$ 0,53 (a)*(b)*	1,58 $\pm$ 0,29 (a)*	1,53 $\pm$ 0,31 (b)*	0.001*
<b>Apo A-II (mg/dl)</b>	36,93 $\pm$ 6,59 (a)*(b)**	41,22 $\pm$ 9,14 (a)*(c)*	34,70 $\pm$ 5,51 (b)**(c)*	0.000*
<b>HDL-col (%)</b>	15,44 $\pm$ 2,52 (a)*(b)*	16,66 $\pm$ 2,47 (a)*(c)*	17,68 $\pm$ 2,38 (b)*(c)*	0.000*
<b>HDL-Tg (%)</b>	6,59 $\pm$ 2,49 (a)*(b)*	4,51 $\pm$ 1,36 (a)*(c)*	3,16 $\pm$ 1,21 (b)*(c)*	0.000*
<b>HDL-fos (%)</b>	32,29 $\pm$ 3,47 (a)**	31,21 $\pm$ 3,76 (a)**(c)*	33,22 $\pm$ 3,56 (c)*	0.063**
<b>HDL-NEFA (%)</b>	0,94 $\pm$ 0,62	0,79 $\pm$ 0,58 (c)**	1,26 $\pm$ 1,93 (c)**	0.185
<b>HDL A-I (%)</b>	30,86 $\pm$ 5,18 (b)*	32,73 $\pm$ 6,23	33,74 $\pm$ 5,51 (b)*	0.024*
<b>HDL A-II (%)</b>	14,83 $\pm$ 4,35 (b)*	14,89 $\pm$ 5,28 (c)*	12,19 $\pm$ 2,91 (b)*(c)*	0.001*

\*p < 0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p<0,1) a)Fenotipo B vs fenotipo A b)Fenotipo B vs Controles c)Fenotipo A vs controles

Los sujetos con HFC y fenotipo B de las LDLs presentaban una menor **proporción de apo A-I (HDL A-I)** (p 0,010) y una mayor **proporción de apo A-II (HDL A-II)** (p 0,003) en sus HDLs así como menores concentraciones plasmáticas de **apo A-I** (p 0,002) y tendencia a mayores niveles de **apo A-II** (p 0,052) que las personas sin la dislipemia. Sus HDLs tenían un menor **contenido de colesterol** (p 0,000) y un mayor **contenido de triglicéridos** (p 0,000), sin diferencias significativas en su **contenido de fosfolípidos** o **NEFAS** respecto al de los controles sanos.

Las personas con HFC y fenotipo A de las LDLs tenían en sus HDLs una mayor **proporción de apo A-II (HDL A-II)** (p 0,001) y mayores concentraciones plasmáticas de **apo A-II** (p 0,000) que los controles sin diferir de ellos en la **proporción de apo A-I (HDL A-I)** de estas partículas ni en los niveles plasmáticos de **apo A-I**. Sus HDLs tenían un menor **contenido en colesterol** (p 0,027), un mayor **contenido en triglicéridos** (p 0,000), un menor **contenido en fosfolípidos** (p 0,002) y tendían a tener menor **contenido en NEFAS** (p 0,082) que los sujetos sin la dislipemia.

TABLA 15. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LAS HDLS: HFC FENOTIPO B (LDL  $\leq$  25.5 NM) VS HFC FENOTIPO A (LDL  $>$  25.5 NM) VS CONTROLES

	$\leq 25.5$	$>25.5$	CONTROLES	P
<b>PAF-AH total</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	27,31 + 9,41 (b)*	26,03 + 9,32 (c)*	19,12 + 6,25 (b)*(c)*	0.000*
<b>HDL PAF-AH</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	11,74 + 4,25 (b)*	10,76 + 3,30 (c)*	8,81 + 3,80 (b)*(c)*	0.000*
<b>% HDL PAF-AH</b> (%)	43,78 + 11,24	43,16 + 12,18	46,21 + 15,29	0.502
<b>PON 1</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	72,05 + 27,50	69,59 + 25,86	75,91 + 25,67	0.127
<b>▲ Lag Phase</b> (min)	87,65 + 28,54 (a)*(b)*	72,15 + 25,48 (a)*(c)**	65,59 + 22,13 b(*) (c)**	0.000*
<b>Inhib. Rf (%)</b>	25,39 + 7,66 (b)**	24,26 + 7,85	22,61 + 7,62 (b)**	0.197

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística ( p <0,1) a) Fenotipo B vs fenotipo A b) Fenotipo B vs Controles c) Fenotipo A vs controles SIGN: nivel de significación estadística PON-1: actividad plasmática PON-1 PAF-AH total: actividad PAF-AH plasmática total HDL PAF-AH: actividad PAF-AH en las HDLs

Los pacientes con fenotipo B de las LDLs mostraban, respecto a los del fenotipo A de las mismas, menores concentraciones plasmáticas de **apo A-I** (p 0,000) y de **apo A-II** (p 0,013) así como un menor **contenido de colesterol** (p 0,027), un mayor **contenido de triglicéridos** (p 0,000) y una tendencia a un mayor **contenido de fosfolípidos** (p 0,061) en sus HDLs.

Los individuos con la dislipemia genética y fenotipo B de las LDLs mostraban una mayor **actividad PAF-AH total** (p 0,000) y una mayor **actividad PAF-AH en sus HDLs** (p 0,000) que

los individuos sanos, sin revelar diferencias significativas en su **proporción de PAF-AH de las HDLs** ni en su actividad **PON-1**. La adición de sus HDLs a las LDLs producía un mayor **incremento de la fase de latencia (lag Phase) de oxidación** (p 0,000) y tendían a inducir una mayor **inhibición del Rf** (p 0,079) de estas lipoproteínas que la hallada en los controles sanos.

Por su parte, los pacientes con fenotipo A de las LDLs también tenían mayores **actividad PAF-AH total** (p 0,000) y **actividad PAF-AH de sus HDLs** (p 0,003) que las personas sin la dislipemia sin diferir de ellos en la **proporción de PAF-AH de las HDLs** ni en la actividad **PON-1**. El **incremento de la fase de latencia de oxidación** producido por sus HDLs tendía a ser superior (p 0,069) que en los controles pero no hubo evidencias de diferencias en la **inhibición del Rf** producida por las mismas.

La adición de sus HDLs a las LDLs produjo un mayor **incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación** en los pacientes con fenotipo B de LDL que en los del A (p 0,005) pero no producía respuesta diferente en la **inhibición del Rf** de las LDLs. No se hallaron otras diferencias entre ambos fenotipos en relación a la actividad enzimática PON-1 o PAF-AH (total o en las HDLs) o su proporción en las HDLs.

#### PACIENTES SEGÚN SU FENOTIPO LIPÍDICO

##### *a) Fenotipo hipertriglicéridémico*

Estos individuos tenían niveles plasmáticos de **apo A-I** inferiores a los de los controles (p 0,049) y que tendían a ser menores a los de los hipercolesterolémicos (p 0,079), y niveles de **apo A-II** superiores a los de los controles (p 0,039), así como una **proporción de apo A-I (HDL A-I)** menor (p 0,029) y una **proporción de apo A-II (HDL A-II)** superior (p 0,000) en sus HDLs respecto a las de los controles.

En cuanto a la composición lipídica de sus HDLs, su **contenido en colesterol** era menor al de los hipercolesterolémicos (p 0,000) y al de los controles sanos (p 0,000) y tendía a ello respecto a los del fenotipo mixto (p 0,077). Sus HDLs tenían más **triglicéridos** que los hipercolesterolémicos (p 0,000) y los controles sanos (p 0,000), y tendían a tener más **NEFAS** que los hipercolesterolémicos (sign 0,073) y menos que los del fenotipo mixto (p 0,075).

Su **actividad PAF-AH total** era menor a la de los hipercolesterolémicos (p 0,026) y a la de los del fenotipo mixto (p 0,005) pero mayor a la de los controles (p 0,001), mientras que la **actividad PAF-AH de sus HDLs** era mayor a la de los controles (p 0,003). Su **proporción de PAF-AH de las HDLs** tendía a ser superior a la de los hipercolesterolémicos (p 0,097) y era significativamente mayor a la de los del fenotipo mixto (p 0,008). Su **actividad PON-1** tendía a ser menor a la de los

controles (p 0,065). El **incremento del lag phase de oxidación** tendía a ser superior al de los controles (p 0,052).

TABLA 16. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LAS HDLS (I): CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>Apo A-I (g/l)</b>	1.4103 ± 0.26 (a)**(c)*	1.5542 ± 0.32 (a)**	1.5776 ± 0.67	1.5317 ± 0.31 (c)*	0,227
<b>Apo A-II (mg/dl)</b>	40.0139 ± 9.96 (c)*	38.6245 ± 8.33 (e)*	40.6805 ± 7.29 (f)*	35.0200 ± 5.44 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>HDL-col (%)</b>	14.3744 ± 1.94 (a)*(b)**(c)*	17.2137 ± 2.41 (a)*	16.3442 ± 2.44 (b)**	17.6823 ± 2.38 (c)*	0,000*
<b>HDL-Tg (%)</b>	7.0469 ± 2.60 (a)*(c)*	4.2255 ± 1.33 (a)*(d)*(e)*	6.2903 ± 1.42 (d)*(f)*	3.1643 ± 1.21 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>HDL-fos (%)</b>	32.5072 ± 3.32	30.6675 ± 3.88 (d)**(e)*	33.4456 ± 2.82 (d)**	33.2196 ± 3.56 (e)*	0,004*
<b>HDL-NEFA (%)</b>	0.9257 ± 0.64 (a)**(b)**	0.6631 ± 0.35 (a)**(d)*(e)*	1.2367 ± 0.82 (b)**(d)*	1.2602 ± 1.93 (e)*	0,008*
<b>HDL A-I (%)</b>	30.5479 ± 5.06 (c)*	32.9253 ± 6.45	30.1476 ± 3.97 (f)*	33.7422 ± 5.51 (c)*(f)*	0,019*
<b>HDL A-II (%)</b>	15.5236 ± 3.85 (c)*	14.9680 ± 6.02 (e)*	13.7723 ± 2.96 (f)*	12.1916 ± 2.91 (c)*(e)*(f)*	0,002*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) HiperTG vs Hipercol, (b)HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

a) *Fenotipo hipercolesterolémico*

Las personas con HFC y este fenotipo tendían a mayores niveles plasmáticos de **apo A-I** que los hipertriglicéridémicos (p 0,079), tenían niveles de **apo A-II** mayores que los controles sanos (p 0,006) y una mayor **proporción de apo A-II (HDL A-II)** en sus HDLs que los controles (p 0,012). Sus HDLs mostraban mayor **contenido de colesterol** que los hipertriglicéridémicos (p 0,000), un **contenido de triglicéridos** menor al de los hipertriglicéridémicos (p 0,000) y al de los del fenotipo mixto (p 0,000) y mayor al de los controles (p 0,000), su **contenido de fosfolípidos** tendía a ser menor al de los del fenotipo mixto (p 0,076) y era significativamente inferior al de los controles (p 0,009), mientras que su **contenido en NEFAS** tendía a ser menor al de los hipertriglicéridémicos (p



0,073) y era significativamente menor al de los del fenotipo mixto (p 0,001) y al de los controles (p 0,021).

Su **actividad PAF-AH total** era mayor a la de los hipertriglicéridémicos (p 0,026) y a la de los controles (p 0,000) y su **actividad PAF-AH de las HDLs** superior a la de los controles (p 0,000). La **proporción de PAF-AH de las HDLs** tendía a ser inferior a la de los hipertriglicéridémicos (p 0,097). El **incremento del lag phase de oxidación** de las LDLs inducido por sus HDLs era mayor al de los controles (p 0,001).

TABLA 17. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LAS HDLS (II): CASOS SEGÚN FENOTIPO LIPÍDICO VS CONTROLES

	HIPERTG	HIPERCOL	MIXTO	CONTROL	P
<b>PAF-AH total</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	23.56622 $\pm$ 8.13 (a)*(b)*(c)*	27.34477 $\pm$ 9.71 (a)*(e)*	29.57901 $\pm$ 9.64 (b)*(f)*	19.11725 $\pm$ 6.25 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>HDL PAF-AH</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	10.8371 $\pm$ 3.32 (c)*	11.3338 $\pm$ 3.94 (e)*	11.4058 $\pm$ 4.16 (f)*	8.8098 $\pm$ 3.80 (c)*(e)*(f)*	0,000*
<b>% HDL PAF-AH (%)</b>	47.1640 $\pm$ 11.63 (a)**(b)*	42.5591 $\pm$ 10.99 (a)**	39.5249 $\pm$ 11.41 (b)*(f)*	46.2078 $\pm$ 15.29 (f)*	0,086**
<b>PON 1</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	65.6032 $\pm$ 26.00 (c)**	70.6574 $\pm$ 25.39	75.9469 $\pm$ 30.12	75.9141 $\pm$ 25.67 (c)**	0,291
<b>▲ Lag Phase (min)</b>	76.628 $\pm$ 25.24 (c)**	78.535 $\pm$ 27.05 (e)*	86.436 $\pm$ 32.31 (f)*	65.587 $\pm$ 22.14 (c)**(e)*(f)*	0,001*
<b>Inhib. Rf (%)</b>	24.471 $\pm$ 6.64	24.353 $\pm$ 7.71	25.355 $\pm$ 9.34	22.613 $\pm$ 7.6	0,338

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1) a) HiperTG vs Hipercol, (b) HiperTG vs Mixtos (c) HiperTG vs Controles (d) HiperCol vs Mixtos (e) HiperCol vs Controles (f) Mixtos vs Controles

*b) Fenotipo mixto*

Los sujetos con HFC y este fenotipo tenían niveles plasmáticos de **apo A-II** superiores (p 0,000), una **proporción de apo A-I (HDL A-I)** en sus HDLs inferior (p 0,005) y una **proporción de apo A-II (HDL A-II)** en las mismas superior (p 0,009) a la de los controles sanos. Sus HDLs tendían a contener más **colesterol** que los hipertriglicéridémicos (p 0,077), tenían más **triglicéridos** que los hipercolesterolémicos (p 0,000) y los controles (p 0,000), tendían a contener más **fosfolípidos** que los hipercolesterolémicos (p 0,076) y su contenido en **NEFAS** tendía a ser mayor que el de los

hipertrigliceridémicos (p 0,075) y era significativamente mayor al de los hipercolesterolémicos (p 0,001).

Su **actividad PAF-AH total** era mayor a la de los hipertrigliceridémicos (p 0,005) y a la de los controles (p 0,000), su **actividad PAF-AH de las HDLs** superior a la de los controles (p 0,004) y su **proporción de PAF-AH de las HDLs** menor a la de los hipertrigliceridémicos (p 0,008) y a la de los controles (p 0,045). El **incremento del lag phase de oxidación** de las LDLs inducido por sus HDLs era mayor al de los controles (p 0,002).

CORRELACIONES significativas de estos parámetros:

PROPORCIÓN DE A-I EN LAS HDLS (HDL A-I):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño LDL</b> ( 0,273 (total)) <b>Cintura</b> (0,357 (♂)) <b>HDL</b> (0,237 (total)) <b>Adiponectina</b> (0,240 (total))	<b>VLDL</b> ( -0,300 (total), -0,346 (♂)) <b>TC-: Triglicéridos</b> ( -0,213, p 0,051 (total)) <b>Colesterol total</b> (-0,355 (♂)) <b>Colesterol no HDL</b> (-0,219 (total),-0,390(♂)) <b>▲Lag Phase</b> (-0,533 (total),-0,557 (♂), -0,469 (♀)) <b>TC-:MCP-1</b> (-0,315, p 0,054 (♀))

APOLIPOPROTEINA A-I (APO A-I):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>TC+:</b> <b>Tamaño LDL</b> (0,182, p 0,060 (total), 0,274, p 0,059 (♀)) <b>TC+ :</b> <b>Talla</b> ( 0,260, p 0,084 (♂)) <b>HDL</b> (0,607 (total),0,430 (♂), 0,884 (♀)) <b>LDL oxidada</b> ( 0,272(total), 0,422 (♂)) <b>Adiponectina</b> (0,231(total), 0,354 (♀)) <b>TC+:</b> <b>GM-CSF</b> ( 0,493, p 0,073 (♀))	<b>Triglicéridos</b> ( -0,306 (♀)) <b>TC-: VLDL</b> ( -0,275, p 0,053 (♀)) <b>Colesterol no HDL</b> ( -0,321 (♀)) <b>Cintura</b> ( -0,407 (♀)) <b>Insulinemia</b> (-0,210 (total),-0,304 (♀)) <b>TC-: HbA1c</b> ( -0,235, p 0,087 (♂)) <b>PAF-AH total</b> (-0,273 (total),-0,537 (♀)) <b>HDL PAF-AH</b> (-0,229 (total),-0,410 (♀)) <b>TC-: IL-6</b> (-0,262, p 0,079 (♀))

PROPORCIÓN DE A-II EN LAS HDLS) (HDL A-II):

Correlaciones +	Correlaciones -
TC+: <b>Insulinemia</b> (0,300, p 0,063(♀)) <b>MCP-1</b> (♀ (0,330)) <b>Inh. Rf</b> (0,323(♂)) <b>▲Lag Phase</b> (0,254 (total)) TC+: <b>▲Lag Phase</b> ( 0,292, p 0,052 (♂))	<b>HDL</b> (-0,295 (total), -0,390 (♀)) <b>% HDL PAF-AH</b> ( -0,238 (total))

APOLIPOPROTEINA A-II (APO A-II):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>NEFAS</b> ( 0,300 (♂)) <b>HDL</b> ( 0,479 (total), 0,372 (♀), 0,586 (♂))	<b>Edad</b> ( -0,357 (♂)) TC-: <b>Cintura</b> ( -0,370, p 0,053(♀)) <b>HbA1c</b> ( -0,336 (♂)) <b>▲Lag Phase</b> (-0,240 (total)) TC-: <b>MCP-1</b> (-0,248, p 0,086 (♂)) TC- <b>adiponectina</b> ( -0,273, p 0,057(♂)) <b>PAF-AH total</b> (-0,398 (♀)) <b>HDL PAF-AH</b> ( -0,388 (♀))

CONTENIDO EN COLESTEROL DE LAS HDLS (HDL-COL):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Tamaño de LDL</b> (0,272 (total), 0,380 (♀)) <b>Colesterol total</b> ( 0,282 (total),0,408 (♂)) <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,326 (♂)) <b>LDL</b> ( 0,379 (total),0,585(♂)) <b>HDL</b> (0,461 (total),0,465 (♀), 0,517 (♂)) <b>PAF-AH total</b> (0,319 (♂)) TC+: <b>PAF-AH Total</b> (0,206, p 0,069 (total)) <b>HDL PAF-AH</b> ( 0,224 (total),0,326 (♂)) <b>▲Lag Phase</b> (0,371 (total),0,521(♀)) TC+ : <b>▲Lag Phase</b> (0,271, p 0,072 (♂)) <b>Adiponectina</b> (0,259 (total),0,422 (♂))	<b>Triglicéridos</b> (-0,472 (total), -0,441 (♀), -0,525(♂)) <b>NEFAS</b> (-0,325 (total), -0,380 (♂)) <b>VLDL</b> (-0,433(♀)) TC-: <b>VLDL</b> (-0,211, p 0,054 (total)) <b>Peso</b> ( -0,424 (♂)) <b>Cintura</b> (-0,460 (♂)) <b>IMC</b> ( -0,511 (♂)) TC-: <b>IMC</b> (-0,247, p 0,058 (total)) <b>Insulinemia</b> ( -0,305(total),-0,345 (♂))

CONTENIDO EN TRIGLICÉRIDOS DE LAS HDLS (HDL-TG):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Triglicéridos</b> (0,822(total),0,757 (♀),0,842(♂)) <b>VLDL</b> (0,601(total), 0,781(♀),0,541(♂)) <b>NEFAS</b> (0,544 (total),0,407(♀), 0,573(♂)) <b>IMC</b> (0,381 (♂)) <b>Edad</b> ( 0,410 (♀)) <b>Insulinemia</b> (0,238 (total)) TC+: <b>Insulinemia</b> (( 0,269, p 0,085 (♂)) <b>▲Lag Phase</b> (0,225 (total)) TC+: <b>Inh. Rf</b> (0,293, p 0,051 (♂))	<b>Tamaño de LDL</b> (-0,693(total), ♀(-0,705 (♀), -0,706 (♂)) <b>LDL</b> (-0,395(total), -0,501(♂)) <b>HDL</b> ( -0,558 (total),-0,583 (♀),-0,541(♂)) <b>Adiponectina</b> (-0,303 (total),-0,337 (♂)) TC-: <b>GM-CSF</b> (-0,539, p 0,071 (total))

CONTENIDO EN NEFAS DE LAS HDLS (HDL-NEFA):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Triglicéridos</b> (0,377 (total), 0,472 (♂)) <b>VLDL</b> ( 0,220 (total)) <b>NEFAS</b> ( 0,418(total), 0,567(♂)) TC+: <b>colesterol no HDL</b> ( 0,205, p 0,061 (total)) <b>Insulinemia</b> ( 0,310 (total), 0,346 (♂)) <b>IL-8</b> (0,318 (♂))	TC-: <b>Tamaño LDL</b> ( -0,206, p 0,065 (total)) <b>Talla</b> (-0,291(total),-0,422 (♂)) TC-: <b>Talla</b> ( -0,354, p 0,076 (♀)) <b>HDL</b> (-0,269 (total),-0,337 (♂)) <b>GM-CSF</b> (-0,610 (total)) TC-: <b>GM-CSF</b> (-0,745, p 0,055 (♀)) <b>Adiponectina</b> (-0,238 (total),-0,310 (♂))

CONTENIDO EN FOSFOLÍPIDOS DE LAS HDLS (HDL-FOS):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>VLDL</b> (0,221(total)) TC+: <b>HbA1c</b> (0,314, p 0,066(♀)) TC+: <b>HDL PAF-AH</b> (0,216, p 0,056 (total), 0,278, p 0,071 (♂))	TC-: <b>tamaño de LDL</b> (-0,197, p 0,078 (total)) TC-: <b>GM-CSF</b> (-0,714, p 0,071(♀))

PARAOXONASA-1 (PON-1):

Correlaciones +	Correlaciones -
<b>Inhib. Rf</b> (0,253(total), 0,431 (♀)) <b>LDL Oxidada</b> (0,347 (♀)) <b>IL-6</b> (0,212 (total),0,303 (♀),0,303 (♂))	<b>PAF-AH total</b> (-0,275 (total), -0,364(♀), -0,364(♂)) TC-: <b>HDL PAF-AH</b> (-0,186, p 0,068 (total)) TC-: <b>PCR</b> (-0,195, p 0,071 (total))

ACETILHIDROLASA DEL FACTOR ACTIVADOR DE LAS PLAQUETAS (PAF-AH):

**Correlaciones +**

**Correlaciones -**

<p><u>Act. PAF-AH Total</u>  <b>Colesterol total</b> ( 0,364 (total), 0,383 (♂), 0,416 (♀))  <b>LDL</b> (0,420 ( total), 0,453 (♂), 0,479 (♀))  <b>Colesterol no HDL</b> (0,425(total), 0,386 (♂), 0,518 (♀))  <b>Apo B</b> ( 0,490 (♀))  <b>Cintura</b> ( 0,339 (♀))                      TC+: <b>Cintura</b> ( 0,220, p 0,076 (total))  <b>Peso</b> ( 0,404 (♀))                      TC+: <b>IMC</b> (0,327, p 0,068 (♀))                      TC+: <b>Talla</b> ( 0,330, p 0,070 (♀))  <b>HDL-Col</b> ( 0,319 (♂))                      TC+: <b>HDL-Col</b> ( 0,206, p 0,069 (total))  <b>▲Lag Phase</b> ( 0,284 (total), 0,332 (♂))                      TC+: <b>Inh. Rf</b> ( 0,244, p 0,075 (♂))                      TC+: <b>IL-8</b> (0,264, p 0,052 (♂))</p>	<p><u>Act.PAF-AH Total</u>  <b>Edad</b> (-0,281(total), -0,422 (♀))  <b>HDL</b> (-0,246(total), -0,446 (♀))  <b>Apo A-I</b> ( -0,273(total), -0,537 (♀))  <b>Apo A-II</b> (-0,398 (♀))  <b>PON-1</b> (-0,275(total),-0,364(♂),-0,364(♀))                      TC-: <b>Adiponectina</b> (-0,168, p 0,092 (total))</p>
<p><u>Act. HDL PAF-AH</u>  <b>VLDL</b> ( 0,201 (total))  <b>Colesterol total</b> ( 0,285 (total), 0,344 (♂))                      TC+: <b>Colesterol total</b> ( 0,287, p 0,05 (♀))  <b>LDL</b> ( 0,219 (total),0,311(♀))  <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,341 (total),0,358 (♂), 0,361 (♀))  <b>Apo B</b> ( 0,302 (♀))  <b>Cintura</b> ( 0,282 (total), 0,378 (♂))  <b>HDL-Col</b> (0,224 (total), 0,326(♂))                      TC+: <b>HDL-Fos</b> ( 0,216, p 0,056 (total),0,278, p 0,071(♂))  <b>PCR</b> (0,348, p 0,021 (♀))</p>	<p><u>Act.HDL PAF-AH</u>  <b>HDL</b> (-0,223 (total), -0,319 (♀))  <b>Apo A-I</b> (-0,229 (total),-0,410 (♀))  <b>Apo A-II</b> (-0,388 (♀))                      TC-: <b>PON-1</b>( -0,186, p 0,068 (total))                      TC-: <b>TGFβ</b> (-0,252, p 0,091 (♀))</p>
<p><u>% HDL PAF-AH:</u>                      TC+: <b>Triglicéridos</b> ( 0,259, p 0,054 (♂))  <b>Cintura</b> (0,457 (♂))                      TC+: <b>Peso</b> ( 0,298, p 0,052 (♂))  <b>Leptina</b> (0,304, p 0,024 (♂))</p>	<p><u>% HDL PAF-AH</u>  <b>LDL</b> ( -0,275 (total), -0,280 (♂))                      TC-: <b>LDL</b> (-0,264, p 0,073 (♀))                      TC-: <b>Colesterol no HDL</b> (-0,280, p0,057(♀))  <b>Apo B</b> ( -0,301 (♀))  <b>HDL A-II</b> (-0,238 (total))  <b>▲Lag Phase</b> (-0,230 (total))                      TC-: <b>▲Lag Phase</b> (-0,263, p 0,055(♂))                      TC-: <b>TGFβ</b> (-0,262 p 0,079 (♀))</p>

CAPACIDAD ANTIOXIDATIVA DE LAS HDLS: ▲LAG PHASE- INHIBICIÓN RF

**Correlaciones +**

**Correlaciones -**

<p><b>▲Lag Phase:</b>                  TC+: <b>VLDL</b> (0,179, p 0,071 (total))  <b>Colesterol total</b> (0,218 (total))                  TC+: <b>Colesterol total</b> ( 0,261, p 0,076 (♀))  <b>Colesterol no HDL</b> (0,256 (total))                  TC+: <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,278, p 0,058 (♀), 0,251, p 0,062 (♂))  <b>Lp (a)</b> ( 0,383 (♂))  <b>PAF-AH total</b> (0,284 (total),0,332 (♂))  <b>HDL A-II</b> ( 0,254 (total))                  TC+: <b>HDL A-II</b> ( 0,292, p 0,052 (♂))  <b>HDL-Tg</b> (0,225 (total))  <b>HDL-Col</b> (0,371(total),0,521(♀))                  TC+:<b>HDL-Col</b> ( 0,271, p 0,072 (♂))  <b>GM-CSF</b> ( 0,429 (total), 0,706 (♂))                  TC+: <b>IL-6</b> ( 0,263, p 0,088 (♀))</p> <p><u>Inhibición Rf:</u>  <b>PON-1</b> (0,253 (total), 0,431(♀))  <b>HDL A-II</b> ( 0,323(♂))                  TC+: <b>HDL-Tg</b> ( 0,293, p 0,051(♂))                  TC+: <b>PAF-AH total</b> (0,244, p 0,075(♂))  <b>IL-8</b> (0,380 (♂))                  TC+: <b>TGFβ</b> (0,247, p 0,084(♂))</p>	<p><b>▲Lag Phase:</b>  <b>Cintura</b> ( -0,387(♂))  <b>IMC</b> (-0,360 (♂))  <b>% HDL PAF-AH</b> (-0,230 (total))                  TC-: <b>% HDL PAF-AH</b> ( -263, p 0,055 (♂))  <b>HDL A-I</b> (-0,533 (total),-0,557(♂),-0,469(♀))  <b>Apo A-II</b> ( -0,240 (total))                  TC-: <b>leptina</b> (-0,237, p 0,082 (♂))  <b>Tamaño LDL</b> (-0,301 (total),-0,310 (♂))</p> <p><u>Inhibición Rf:</u>  <b>HDL</b> ( -0,364 (♂))  <b>Tamaño LDL</b> (-0,270 (♂))</p>
---	---



## **RESULTADOS ESTUDIO LONGITUDINAL**



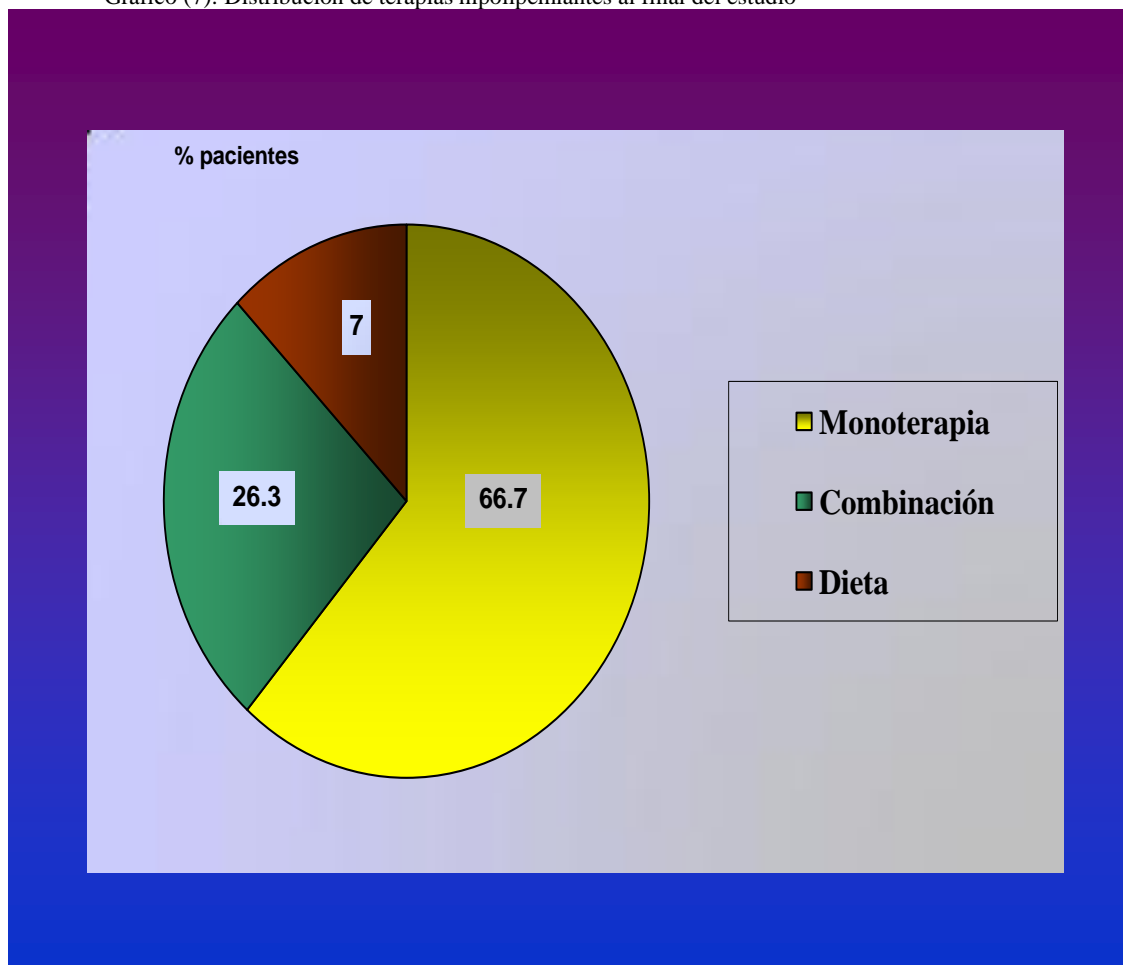


## 1. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO EN EL ESTUDIO LONGITUDINAL

En el estudio longitudinal tras la visita inicial se decidió el tratamiento más adecuado para cada uno de los pacientes de cara a conseguir los objetivos de control lipídico planteados ya previamente.

En el siguiente gráfico (7) se detalla la distribución de las diferentes terapias empleadas en los participantes en el estudio longitudinal. Un 7% de los sujetos se hallaban exclusivamente con medidas dietéticas para el control de su dislipemia. El 93% restante de los individuos recibían además tratamiento farmacológico (un 66.7% del total de sujetos en forma de monoterapia y la proporción restante en forma de terapia combinada).

Gráfico (7): Distribución de terapias hipolipemiantes al final del estudio

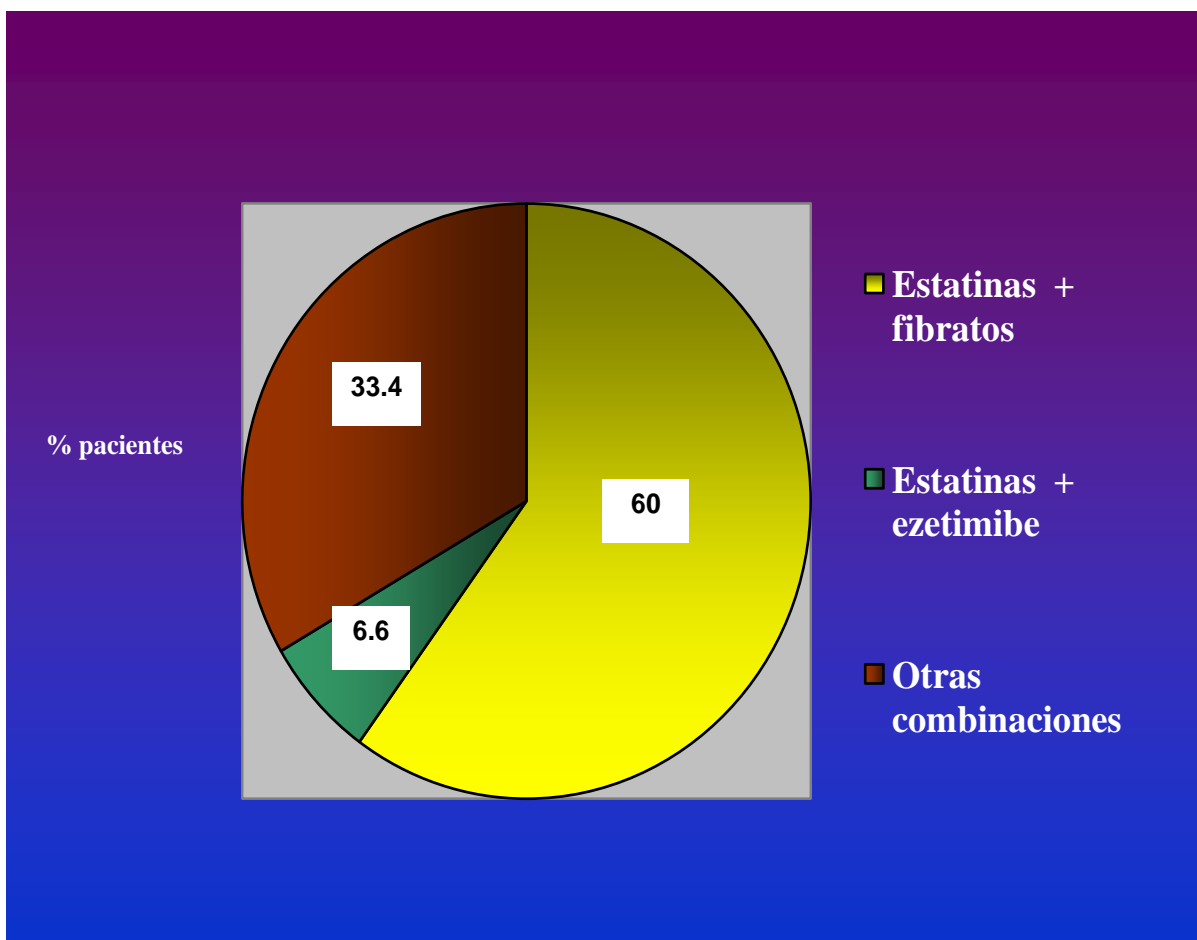


De los pacientes que recibían tratamiento farmacológico ya fuese en monoterapia o combinado, un 83.01% tomaban estatinas, un 35.85% recibían fibratos, un 5.66% tomaban ezetimibe y el mismo porcentaje tomaban glitazona (pioglitazona).

Entre aquellos que tomaban un solo fármaco hipolipemiente, el 78.95% tomaban una estatina y el resto de los sujetos tomaban un fibrato en monoterapia.

Si analizamos los individuos que tomaban una combinación de fármacos, un 93.33% de los sujetos incluían una estatina en dicha terapia, un 73.33% incluían un fibrato y un 20% ezetimibe en la combinación.

Gráfico (8). Distribución global de las combinaciones farmacológicas al final del estudio longitudinal.



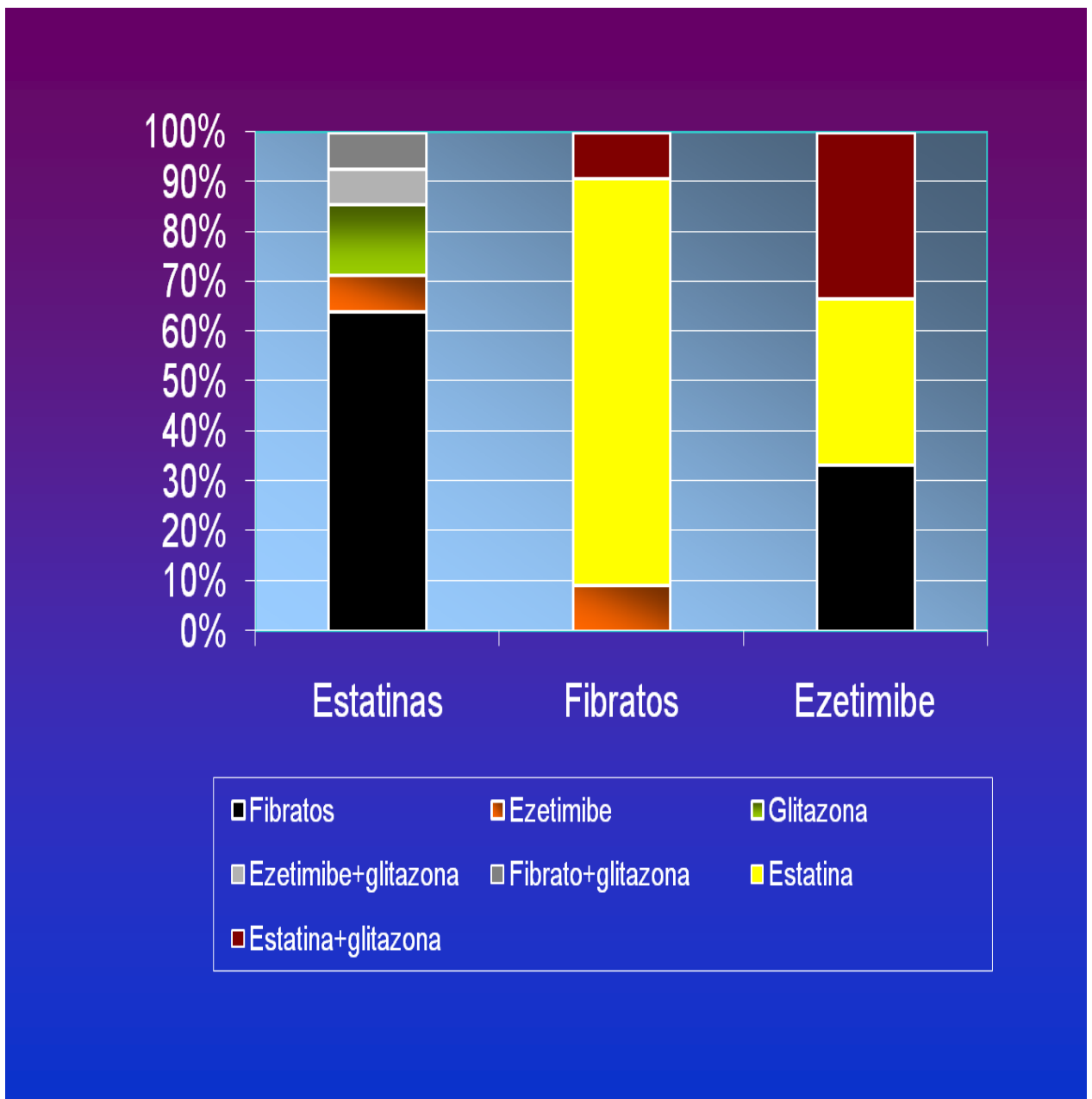
En los gráficos (8) y (9) se detallan los diferentes fármacos empleados en combinación en el estudio. Las estatinas fueron los fármacos más utilizados. En más de la mitad de los sujetos a los que se adicionó un segundo fármaco a la estatina, éste fue un fibrato. Las glitazonas (pioglitazona) fue la segunda familia usada con más asiduidad para combinar con una estatina.

En el caso de los fibratos, más allá de su común combinación con estatinas, el ezetimibe fue la segunda monoterapia añadida más frecuentemente.

A la hora de elegir un segundo fármaco para combinar con ezetimibe de cara a lograr objetivos terapéuticos se usó con la misma frecuencia la estatina o el fibrato.

Las glitazonas fueron empleadas mayoritariamente como integrante de una triple terapia conjuntamente con estatina, ezetimibe o fibrato.

Gráfico (9): Distribuciones detalladas de las diferentes combinaciones farmacológicas de cada familia de fármacos hipolipemiantes al final del estudio longitudinal



# 1. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICO-METABÓLICAS DE LOS PACIENTES

## COHORTE TOTAL DE PACIENTES

TABLA 18. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICO-ANTROPOMÉTRICAS INICIO-FINAL DEL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
Sexo ( H/M % )	56 / 44	-	-
Edad ( años )	49 ± 11	-	-
Peso ( kg )	79,31 ± 12,41	79,03 ± 11,78	0,549
Cintura ( cm )	97,63 ± 9,75	97,42 ± 9,75	0,813
IMC ( kg/m <sup>2</sup> )	28,78 ± 4,22	28,65 ± 3,96	0,466
Insulinemia (pmol/l)	69,02 ± 43,98	76,07 ± 42,67	0,101
HbA1c ( % )	5,7 ± 0,40	5,68 ± 0.50	0,712

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p<0,1)

La **edad** media inicial de los participantes en el estudio longitudinal era de 49 ± 11 años. Del total de los pacientes un 17% tenían diabetes (todos ellos diabetes mellitus tipo 2), un 34% eran hipertensos, un 30% fumadores activos y un 32% tenían normopeso. Los pacientes presentaban como promedio un sobrepeso grado II (**IMC** 28.78 kg/m<sup>2</sup>), un **perímetro de cintura abdominal** de 97.63 cm y una **talla** de 1.66 ± 0,9 m. Su **HbA1c** como grupo se hallaba en el margen alto de la normalidad. A lo largo del estudio los pacientes no modificaron significativamente sus parámetros ponderales (**peso**, **perímetro de cintura abdominal** e **IMC**) ni los parámetros del metabolismo hidrocarbonado (**insulinemia** y **HbA1c**). Las variaciones de todos estos parámetros no cambiaron según el sexo.

### \*Análisis de los pacientes según el fenotipo de las LDLs

Los pacientes del estudio longitudinal mostraban un **fenotipo B de las LDLs** en un 57% de los casos y un 43% **fenotipo A** de las mismas. Las características epidemiológicas, antropométricas y

del metabolismo hidrocarbonado no variaban significativamente al inicio del estudio en los pacientes según su fenotipo, B ó A, de las LDLs (edad ( $50,34 \pm 10,22$  años vs  $48,08 \pm 11,90$  años, respectivamente, p 0,449), talla ( $1,67 \pm 0,10$  m vs  $1,66 \pm 0,08$  m, p 0,685), peso ( $79,01 \pm 12,20$  kg vs  $80,04 \pm 13,07$  kg, p 0,780), perímetro de cintura abdominal ( $97,76 \pm 8,96$  cm vs  $97,74 \pm 10,79$  cm, p 0,948), IMC ( $28,73 \pm 3,91$  kg/m<sup>2</sup> vs  $28,92 \pm 4,73$  kg/m<sup>2</sup>, p 0,887), insulinemia ( $72,81 \pm 47,49$  pmol/l vs  $61,95 \pm 38,97$  pmol/l, p 0,393), HbA1c ( $5,71 \pm 0,43$  % vs  $5,60 \pm 0,45$  %, p 0,344)).

Durante el estudio, los pacientes con **fenotipo B** inicial de las LDLs presentaron un descenso significativo del **peso** (p 0,045) y una disminución del **IMC** con tendencia a la significación estadística (p 0,061), sin otras modificaciones significativas (perímetro de cintura abdominal (p 0,795), insulinemia (p 0,893), HbA1c (p 0,881). Por su parte, aquellos con el **fenotipo A** inicial de las LDLs mostraron un aumento significativo de la **insulinemia** media (p 0,007) sin otros cambios significativos (peso (p 0,377), perímetro de cintura abdominal (p 0,697),IMC (p 0,501), HbA1c (p 0,819)).

A pesar de ello, al finalizar el estudio estos parámetros seguían sin diferir significativamente entre ambos fenotipos (fenotipo B vs A de LDL: peso ( $77,83 \pm 11,07$  kg vs  $80,73 \pm 12,84$  kg, p 0,879), perímetro de cintura abdominal ( $97,36 \pm 7,66$  cm vs  $97,03 \pm 12,08$  cm, p 0,431), IMC ( $28,30 \pm 3,49$  kg/m<sup>2</sup> vs  $28,59 \pm 4,74$  kg/m<sup>2</sup>, p 0,927), insulinemia ( $73,55 \pm 37,71$  pmol/l vs  $80,14 \pm 50,30$  pmol/l, p 0,486), HbA1c ( $5,72 \pm 0,53$  % vs  $5,62 \pm 0,51$  %, p 0,448)).

CORRELACIONES significativas de estos parámetros:

EDAD

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo	<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo
<u>Edad Inicial</u> <b>HbA1c</b> (inicial (0,299), final (0,316)) <b>PON-1</b> inicial (0,325) <b>Apo A-II</b> final ( 0,309) <b>HDL-NEFA</b> final (0,389) <b>Adiponectina</b> inicial ( 0,320) TC+: <b>Adiponectina</b> final ( 0,269, p 0,052)	<u>Edad Inicial</u> <b>Inh. Rf</b> final (-0,265) <b>HDL A-II</b> inicial ( -0,376) <b>PAF-AH total</b> (inicial(-0,314), final (-0,280) <b>HDL PAF- AH</b> (inicial (-0,275), final (-0,389))

PESO :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>Lp (a)</b> (0,251, p 0,082) <b>HDL A-II</b> (0,379)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>Insulinemia</b> (-0,279, p 0,055).
<u>Peso Final</u> <b>Insulinemia</b> (inicial (0,400), final (0,397)) <b>HDL-Col</b> inicial (0,395) <b>PAF-AH total</b> final (0,330) TC+: <b>Inh. Rf</b> final (0,246, p 0,065) TC+: <b>Leptina</b> final (0,243, p 0,079).	<u>Peso Final</u> TC-: <b>HDL</b> final ( -0,239, p 0,073) <b>Apo A-II</b> final (-0,299) TC-: <b>Apo A-I</b> final (-0,226, p 0,090) <b>HDL-NEFA</b> inicial (-0,397) TC-: <b>HDL-NEFA</b> final ( -0,285, p 0,079) TC-: <b>HDL-Tg</b> inicial (-0,291, p 0,072) TC-: <b>LDL oxidada</b> final ( -0,239, p 0,085) <b>Adiponectina</b> inicial (-0,267)

IMC :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>Lp (a)</b> (0,250, p 0,090) <b>HDL A-II</b> (0,391)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>Insulinemia</b> (-0,278, p 0,061).
<u>IMC Final</u> <b>Insulinemia</b> (inicial (0,584), final ( 0,597)) <b>Leptina</b> ( inicial ( 0,455), final (0,524))	<u>IMC Final</u> : no hubo

PERIMETRO DE CINTURA ABDOMINAL :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo
<u>Cintura Final</u> TC+: <b>TG</b> finales (0,230, p 0,098) TC+: <b>NEFAs</b> iniciales (0,250, p 0,080) <b>Insulinemia</b> (inicial (0,395), final (0,347)) <b>IL-8</b> final (0,295) <b>Leptina</b> final ( 0,321) TC+: <b>Leptina</b> inicial ( 0,234, p 0,092))	<u>Cintura Final</u> <b>Apo A-I</b> final (-0,310) TC-: <b>HDL-Tg</b> inicial (-0,316, p 0,064) <b>HDL</b> final ( -0,289) <b>Adiponectina</b> inicial ( -0,334)

INSULINEMIA :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>LDL negativa</b> (-0,355) TC-: <b>Peso</b> (-0,279, p 0,055) TC-: <b>IMC</b> (-0,278, p 0,061)
<u>Insulinemia Final</u> <b>Peso</b> (0,397 (final), 0,450 (inicial)) <b>Cintura</b> (0,347 (final), 0,330 (inicial)) <b>IMC</b> ( 0,597 (final), ( 0,652 (inicial)) <b>Leptina</b> (inicial (0,458), final( 0,545))	<u>Insulinemia Final</u> <b>GM-CSF</b> final ( -0,498) TC-: <b>GM-CSF</b> inicial ( -0,383, p 0,087)

HB A1C :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo
<u>HbA1c Final</u> <b>Edad</b> inicial (0,316)	<u>HbA1c Final</u> TC-: <b>NEFA</b> final (-0,237, p 0,076) <b>HDL A-II</b> inicial (-0,354) TC-: <b>Apo A-II</b> inicial (-0,266, p 0,050) <b>HDL PAF-AH</b> final ( -0,288) TC-: <b>% HDL PAF-AH</b> final ( -0,235, p 0,082)



COHORTE TOTAL

TABLA 19-A .COMPARATIVA MEDIAS VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES INICIO-FINAL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>Colesterol total ( mmol/l )</b>	7,52 ± 1,74	5,20 ± 0,97	0,000*
<b>cLDL ( mmol/l )</b>	4,55 ± 1,28	3,08 ± 0,75	0,000*
<b>Lp (a) ( mg/l )</b>	388 ± 499	400 ± 497	0,134
<b>Colesterol no HDL ( mmol/l )</b>	6,39 ± 1,66	3,98 ± 0,94	0,000*
<b>Apo B (g/L )</b>	1,46 ± 0,29	0,98 ± 0,22	0,000*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1)

TABLA 19-B. COMPARATIVA MEDIAS VARIABLES LIPÍDICO-METABÓLICAS GENERALES INICIO-FINAL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>Triglicéridos ( mmol/l )</b>	3,73 ± 2,50	1,96 ± 0,80	0,000*
<b>HDLc ( mmol/l )</b>	1,13 ± 0,33	1,22 ± 0,31	0,001*
<b>cVLDL ( mmol/l )</b>	1,70 ± 1,26	0,87 ± 0,41	0,000*
<b>NEFA (mmol/l )</b>	0,84 ± 0,42	0,68 ± 0,27	0,002*

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p<0,1)

Con el tratamiento hipolipemiente se produjo un descenso significativo de diferentes parámetros lipídicos básicos (**triglicéridos**, **VLDLs**, **NEFAS**, **colesterol no HDL**, **colesterol total**, **colesterol LDL** y de la **Apo B**) sin modificarse significativamente los niveles de **Lp (a)** a lo largo del mismo, mientras que las **HDLs** experimentaron un aumento significativo de sus niveles. Ninguna de las variaciones de todos estos parámetros lipídicos difirió de modo significativo según el sexo.

### \*Análisis de los pacientes según el fenotipo de las LDLs

Inicialmente los pacientes con fenotipo B de LDLs tenían significativamente más **triglicéridos** ( $4,86 \pm 2,83$  vs  $2,30 \pm 0,68$  mmol/l, p 0,000), más **VLDLs** ( $2,23 \pm 1,47$  vs  $1,03 \pm 0,25$  mmol/l, p 0,000), más **NEFAS** ( $0,95 \pm 0,47$  vs  $0,67 \pm 0,27$  mmol/l, p 0,014), menos **cLDL** ( $4,02 \pm 1,16$  vs  $5,14 \pm 0,99$  mmol/l, p 0,000) y menos **cHDL** ( $0,96 \pm 0,26$  vs  $1,35 \pm 0,30$  mmol/l, p 0,000) que aquellos con fenotipo A inicial de estas partículas.

No se hallaron diferencias significativas entre ambos subgrupos en lo referente al colesterol no HDL ( $6,49 \pm 2,01$  vs  $6,16 \pm 0,98$  mmol/l, p 0,462), al colesterol total ( $7,46 \pm 2,11$  vs  $7,51 \pm 1,07$  mmol/l, p 0,908), a la apo B ( $1,42 \pm 0,31$  vs  $1,48 \pm 0,24$  g/l, p 0,421) ni a la Lp (a) ( $319,63 \pm 414,59$  vs  $479,38 \pm 600,12$  mg/l, p 0,158).

Los sujetos con **fenotipo B** de las LDLs presentaron un descenso significativo de los niveles medios de triglicéridos (p 0,000), VLDLs (p 0,000), NEFAS (p 0,008), colesterol no HDL (p 0,000), colesterol total (p 0,000), cLDL (p 0,005) y apo B (p 0,000), mientras que sus niveles de cHDL aumentaron significativamente (p 0,000) durante el estudio. Sus concentraciones medias de Lp (a) no cambiaron significativamente (p 0,099).

Por su parte, los individuos con **fenotipo A** de las LDLs redujeron significativamente los niveles medios de triglicéridos (p 0,000), VLDLs (p 0,000), colesterol no HDL (p 0,000), colesterol total (p 0,000), cLDL (p 0,000) y de apo B (p 0,000). No se modificaron significativamente las concentraciones de NEFAS (p 0,103), Lp (a) (p 0,465) ni de cHDL (p 0,773).

Al concluir el estudio, los sujetos con fenotipo B de LDLs seguían teniendo significativamente más **triglicéridos** ( $2,29 \pm 0,84$  vs  $1,57 \pm 0,48$  mmol/l, p 0,001), **VLDLs** ( $1,00 \pm 0,48$  vs  $0,72 \pm 0,22$  mmol/l, p 0,002), **NEFAS** ( $0,74 \pm 0,29$  vs  $0,59 \pm 0,19$  mmol/l, p 0,037), **colesterol no HDL** ( $4,31 \pm 1,05$  vs  $3,58 \pm 0,54$ , p 0,002), **colesterol total** ( $5,45 \pm 1,15$  vs  $4,92 \pm 0,51$ , p 0,027), **cLDL** ( $3,27 \pm 0,86$  vs  $2,86 \pm 0,51$ , p 0,042) y **apo B** ( $1,04 \pm 0,25$  vs  $0,91 \pm 0,15$ , p 0,033) y menos **cHDL** ( $1,14 \pm 0,27$  vs  $1,34 \pm 0,32$ , respectivamente, p 0,016) que aquellos con el fenotipo A inicial, sin diferir con ellos en los niveles de Lp (a) ( $342,78 \pm 423,34$  vs  $479,79 \pm 589,99$ , respectivamente, p 0,177).

### CORRELACIONES

A continuación detallamos en la tabla las correlaciones significativas de estos parámetros en nuestro estudio.

TRIGLICÉRIDOS:

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>NEFA</b> (0,253, p 0,065).	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Tamaño LDL</b> (-0,322) <b>Apo A-II</b> (-0,435) <b>HDL-Tg</b> (-0,648) <b>LDL negativa</b> (-0,372) TC-: <b>Inh. Rf</b> (-0,234, p 0,089)
<u>Tgs Finales</u> <b>NEFA</b> (finales (0,540), iniciales (0,485)) <b>Apo B</b> final (0,328) TC+: <b>cintura</b> final (0,230, p 0,098) <b>HDL-Tg</b> inicial (0,414) TC+: <b>HDL-Tg</b> final (0,277, p 0,087) TC+: <b>HDL-NEFA</b> inicial (0,396, p 0,012) <b>Apo A-II</b> final (0,282) TC+: <b>LDL oxidada</b> final (0,250, p 0,071). <b>IL-6</b> final (0,283)	<u>Tg Finales</u> <b>Tamaño de LDLs</b> (inicial (-0,426), final (-0,535)) <b>Lp (a)</b> (final (-0,303), inicial (-0,282)) TC-: <b>HDL A-I</b> inicial (-0,275, p 0,090) <b>Adiponectina</b> inicial (-0,309) TC-: <b>GM-CSF</b> final (-0,413, p 0,056).

VLDL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>MCP-1</b> (0,344) <b>Leptina</b> (0,291)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>Tamaño de las LDL</b> (-0,249, p 0,064) <b>Apo A-II</b> (-0,365) <b>HDL-Tg</b> (-0,541) <b>HDL-NEFA</b> (-0,431) <b>LDL negativa</b> (-0,487)
<u>VLVDL Finales</u> <b>NEFA</b> finales (0,288) <b>Apo B</b> final (0,298) TC+: <b>Cintura</b> inicial (0,259, p 0,085). TC+: <b>HDL PAF-AH</b> inicial (0,228, p 0,092). <b>HDL-Tg</b> inicial (0,363) <b>HDL-NEFA</b> inicial (0,597) <b>LDL negativa</b> inicial (0,451) TC+: <b>LDL oxidada</b> (inicial (0,222, p 0,097), final (0,244, p 0,078))	<u>VLVDL Finales</u> <b>Tamaño de LDLs</b> (inicial (-0,286), final (-0,319)) TC-: <b>Apo B</b> inicial (-0,259, p 0,051). TC-: <b>HDL-Col</b> inicial (-0,286, p 0,077) TC-: <b>GM-CSF</b> final (-0,401, p 0,064) TC-: <b>Adiponectina</b> inicial (-0,228, p 0,092)

NEFAS ( ácidos grasos libres no esterificados):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>TC+:</b> <b>TG</b> ( 0,253, p 0,065)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>GM-CSF</b> (-0,505)
<u>NEFAS Finales</u> <b>TG</b> (finales (0,540), iniciales( 0,355)) <b>VLDL</b> final (0,288) <b>TC+ :VLDL</b> inicial (0,233, p 0,082) <b>TC+:</b> <b>Colesterol total</b> final ( 0,240, p 0,072) <b>TC+:</b> <b>Colesterol no HDL</b> ( final ( 0,227, p 0,090) e inicial ( 0,230, p 0,085)) <b>Apo A-II</b> final ( 0,300) <b>Apo A-I</b> inicial( 0,347) <b>TC+:</b> <b>LDL oxidada</b> final ( 0,259, p 0,061) <b>IL-6</b> (final ( 0,358) e inicial ( 0,350)) <b>IL-8</b> final ( 0,289) <b>Leptina</b> inicial ( 0,296)	<u>NEFAS Finales</u> <b>Tamaño LDL</b> inicial (-0,274) <b>TC-:</b> <b>HbA1c</b> final ( -0,237, p 0,076) <b>TC-:</b> <b>Lp (a)</b> inicial ( -0,226, p 0,091)

COLESTEROL NO HDL:

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>ApoB</b> (0,707) <b>PAF-AH total</b> (0,347) <b>HDL PAF-AH</b> (0,315) <b>TC+:</b> <b>Apo A-II</b> ( 0,265, p 0,066) <b>TC+:</b> <b>MCP-1</b> (0,259, p 0,059) <b>TC+:</b> <b>leptina</b> ( 0,260, p 0,060)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>HDL-NEFA</b> (-0,345) <b>LDL oxidada</b> ( -0,296)
<u>Colesterol no HDL Final</u> <b>TC+:</b> <b>NEFA</b> finales (0,227, p 0,090) <b>Apo B</b> final( 0,736) <b>HDL-NEFA</b> (inicial (0,585), final ( 0,363)) <b>HDL-Tg</b> inicial( 0,407) <b>Apo A-II</b> final ( 0,431) <b>HDL A-II</b> final (0,353) <b>TC+:</b> <b>PON-1</b> final ( 0,242, p 0,075). <b>LDL oxidada</b> final (0,337) <b>LDL negativa</b> inicial( 0,312)	<u>Colesterol no HDL Final</u> <b>Tamaño LDL</b> inicial (-0,325) <b>HDL-Col</b> (final (-0,357) e inicial ( -0,407)) <b>HDL A-I</b> final(-0,366) <b>TC-:</b> <b>GM-CSF</b> final ( -0,400, p 0,065)

COLESTEROL LDL:

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Tamaño LDL</b> ( 0,308) <b>Apo B</b> ( 0,829) <b>Apo A-II</b> ( 0,509) <b>HDL-Tg</b> (0,513) <b>PAF-AH total</b> (0,388) <b>LDL negativa</b> (0,440)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>LDL oxidada</b> (-0,308)
<u>LDL Final</u> <b>Apo B final</b> ( 0,782) <b>HDL-NEFA</b> (inicial (0,412), final( 0,429)) <b>HDL-Tg</b> inicial ( 0,347) <b>Apo A-II final</b> (0,448) <b>HDL A-II final</b> (0,421) <b>PON-1 final</b> ( 0,323) <b>LDL oxidada final</b> ( 0,279)	<u>LDL Final</u> TC-: <b>Tamaño LDL</b> inicial (-0,233, p 0,084) <b>HDL-Col final</b> (-0,336) TC-: <b>HDL-Col</b> inicial ( -0,286, p 0,077)) TC-: <b>HDL-Fos final</b> ( -0,274, p 0,091) <b>HDL A-I final</b> (-0,447) TC-: <b>HDL PAF-AH final</b> (-0,226, p 0,095)

COLESTEROL TOTAL:

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Apo B</b> (0,704) TC+: <b>Lp(a)</b> (0,227, p 0,089) <b>Apo A-II</b> (0,351) <b>PAF-AH total</b> (0,358) <b>HDL PAF-AH</b> (0,318) TC+: <b>MCP-1</b> ( 0, 255, p 0,063) TC+: <b>Leptina</b> ( 0,252, p 0,068)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>HDL-NEFA</b> (-0,368) <b>LDL oxidada</b> (-0,301)
<u>Colesterol Total Final</u> TC+: <b>NEFA final</b> ( 0,240, p 0,072) <b>Apo B final</b> ( 0,662) <b>HDL-NEFA</b> inicial (0,505) TC+: <b>HDL-NEFA final</b> ( 0,312, p 0,054) <b>HDL-Tg</b> inicial (0,336) <b>Apo A-I final</b> ( 0,352) <b>Apo A-II</b> (final ( 0,472) TC+ : <b>Apo A-II</b> inicial ( 0,236, p 0,083) <b>HDL A-II final</b> ( 0,363) <b>LDL negativa</b> inicial( 0,319) TC+: <b>LDL oxidada final</b> (0,268, p 0,053 )	<u>Colesterol Total Final</u> TC-: <b>Tamaño LDL</b> inicial (-0,224, p 0,096) <b>HDL-Col</b> inicial (-0,361) TC-: <b>HDL-Col final</b> ( -0,301, p 0,063) TC-: <b>HDL-Fos final</b> ( -0,269, p 0,098) <b>HDL A-I final</b> ( -0,361)

APO B:

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Colesterol total</b> ( 0,704) <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,707) <b>LDL</b> ( 0,829) <b>PAF-AH total</b> ( 0,382) TC+: <b>Apo A-II</b> ( 0,266, p 0,065) TC+: <b>HDL-Tg</b> ( 0,308, p 0,056) <b>LDL negativa</b> ( 0,389)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>LDL Oxidada</b> (-0,310) <b>GM-CSF</b> (-0,463)
<u>Apo B Final</u> <b>TG</b> final ( 0,328) TC+ : <b>TG</b> iniciales ( 0,240, p 0,072) <b>VLDL</b> final( 0,298) <b>Colesterol total</b> final( 0,662) <b>Colesterol no HDL</b> final (0,736) <b>LDL</b> final( 0,782) TC+: <b>Insulinemia</b> inicial ( 0,227, p 0,095) <b>PAF-AH total</b> final ( 0,265) <b>HDL-NEFA</b> (final( 0,411), inicial( 0,364)) TC+: <b>HDL-Tg</b> inicial(0,315, p 0,051) TC+: <b>Apo A-II</b> final ( 0,253, p 0,073) <b>HDL A-II</b> final ( 0,409) <b>PON-1</b> final( 0,325) <b>LDL oxidada</b> final ( 0,388)	<u>Apo B Final</u> <b>Tamaño de LDL</b> inicial (-0,293) TC-: <b>Tamaño LDL</b> final ( -0,246, p 0,065) <b>HDL</b> inicial (-0,268) <b>% HDL PAF-AH</b> final (-0,290) <b>HDL-Col</b> (inicial(-0,330), final ( -0,438)) TC-: <b>HDL-Fos</b> final (-0,305, p 0,059) <b>HDL A-I</b> final( -0,360) <b>LDL negativa</b> final ( -0,396) <b>GM-CSF</b> (final( -0,770), inicial ( -0,744))

LP (A) :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>Colesterol total</b> (0,227, p 0,089) TC+: <b>Peso</b> (0,251, p 0,082) TC+: <b>IMC</b> (0,250, p 0,090) <b>HDL</b> ( 0,277) <b>IL-6</b> ( 0,320)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Inh. Rf</b> (-0,311) TC-: <b>LDL negativa</b> (-0,286, p 0,059)
<u>Lp (a) Final</u> <b>Tamaño LDL</b> (inicial ( 0,283), final (0,336)) <b>HDL-Col</b> final (0,325) TC+: <b>Apo A-I</b> inicial (0,254, p 0,056) <b>HDL</b> (inicial( 0,283), final ( 0,276)) <b>LDL negativa</b> ( inicial ( 0,345), final( 0,716)) <b>Adiponectina</b> final ( 0,333) TC-: <b>IL-8</b> final( -0,225, p 0,098) TC-: <b>TGFβ</b> inicial ( -0,226, p 0,091)	<u>Lp (a) Final</u> <b>TG</b> finales ( -0,303) TC-: <b>NEFA</b> iniciales( -0,258, p 0,059) <b>Talla</b> inicial (-0,268) TC-: <b>Insulinemia</b> inicial ( -0,262, p 0,053)

cHDL:

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Tamaño LDL</b> (0,341) <b>Lp (a)</b> ( 0,277) <b>Apo A-II</b> (0,682) <b>HDL-Tg</b> ( 0,483) <b>IL-6</b> ( 0,274)	<u>Variación estudio longitudinal</u>     
<u>HDL Final</u> <b>Lp (a)</b> (final (0,276), inicial( 0,281)) <b>Apo A-I</b> (final (0,931), inicial (0,481)) <b>HDL A-I</b> inicial (0,449) <b>Tamaño de LDL</b> inicial ( 0,286) <b>TC+:</b> <b>Tamaño LDL</b> final ( 0,243, p 0,069)) <b>TC+:</b> <b>LDL negativa</b> final ( 0,274, p 0,069) <b>Adiponectina</b> (final (0,305) e inicial (0,391))	<u>HDL Final</u> <b>Cintura</b> (inicial (-0,317), final ( -0,289)) <b>TC-:</b> <b>Peso</b> final ( -0,239, p 0,073) <b>HDL A-II</b> inicial ( -0,318) <b>HDL-Fos</b> inicial (-0,418) <b>TC-:</b> <b>HDL-Tg</b> final ( -0,297, p 0,067) <b>TC-:</b> <b>PON-1</b> final ( -0,230, p 0,092) <b>Inh. Rf</b> (inicial (-0,333), final (-0,279)) <b>PAF-AH total</b> final (-0,265) <b>HDL PAF-AH</b> final (-0,270)

## 2. CONSECUCIÓN DE OBJETIVOS LIPÍDICOS CON EL TRATAMIENTO

Se establecieron como objetivos del tratamiento hipolipemiante los siguientes: cLDL < 2.6 mmol/l, colesterol no HDL < 3.4 mmol/l, apo B < 0.9 gr/l, triglicéridos < 2.3 mmol/l, cHDL  $\geq$  1.0/1,3 mmol/l (varones/mujeres)

Tras instauración del tratamiento hipolipemiante, en la población global del estudio longitudinal aumentó la proporción de sujetos en objetivos de cLDL (23% vs 7%), colesterol no HDL( 26% vs 0%), apo B (37% vs 2%), triglicéridos (70% vs 32%), cLDL+colesterol no HDL (23% vs 0%), cLDL+apo B (23% vs 0%), y los de colesterol HDL (68.75% vs 53.12% (varones) y 44% vs 36% (mujeres). La monoterapia logró objetivos con estatinas en 1/3 de casos para el cLDL, 50% para la ApoB y 33% para el colesterol no HDL, y con fibratos en un 63% para los triglicéridos (56 % si estaban combinados con estatinas).

Por tanto, a pesar de usar terapia combinada en el 20% de los casos, únicamente el 23% de los pacientes con HFC de los individuos consiguieron objetivos de cLDL y colesterol no HDL o ApoB. La comparativa de resultados antes y después del tratamiento se muestra en el gráfico 10.

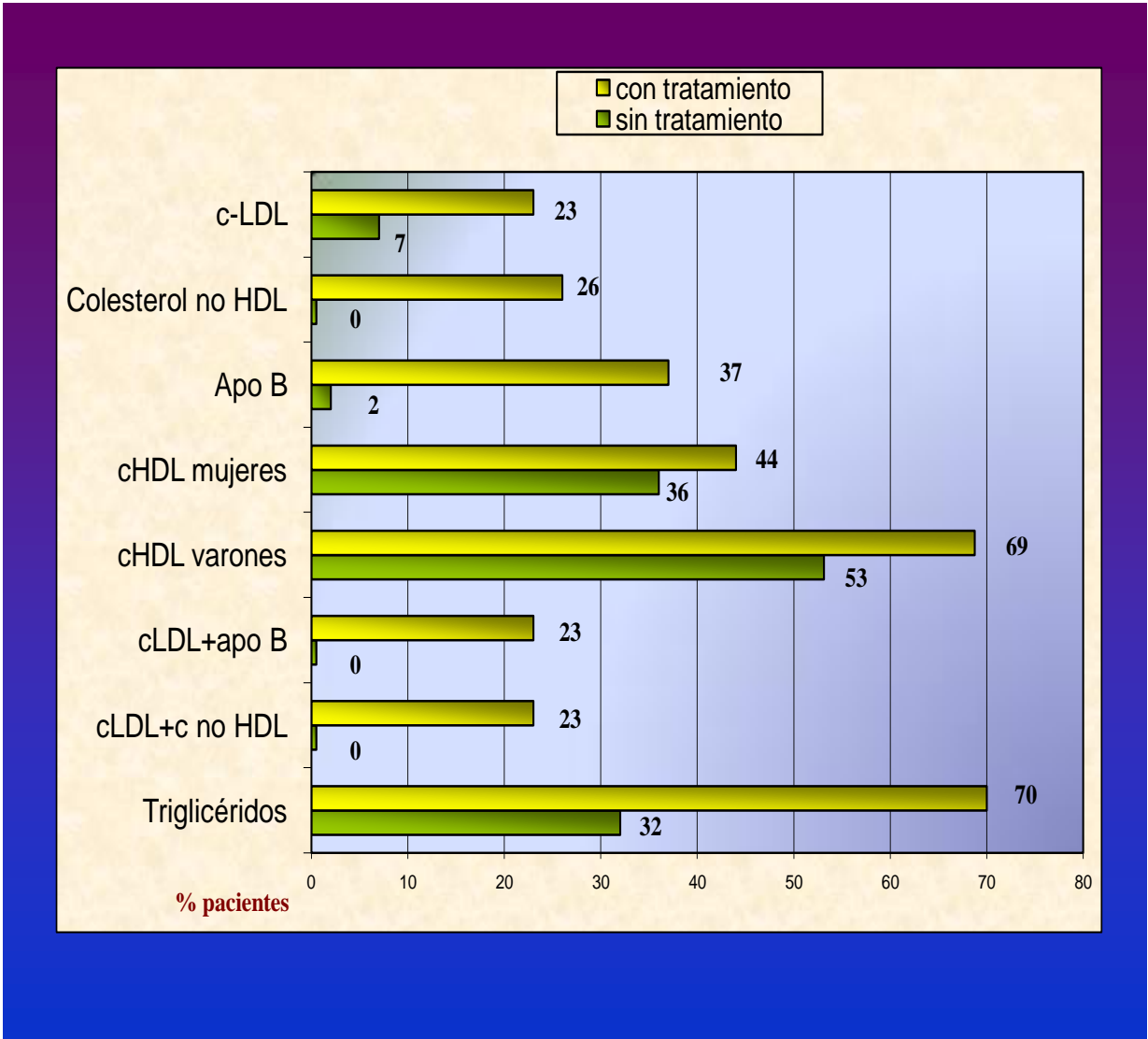


Gráfico 10. Modificación de la proporción de pacientes en objetivos lipídicos con la terapia hipolipemiente



### 3. PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS

TABLA 20. COMPARATIVA MEDIAS PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS INICIO-FINAL DEL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>PCR ( mg/l)</b>	3,65 ± 4,20	3,24 ± 3,40	0,821
<b>IL-6 (ng/l)</b>	1,08 ± 1,04	0,90 ± 1,16	0,053**
<b>IL-8 (ng/l)</b>	15,65± 14,49	14,96 ± 11,97	0,614
<b>MCP-1 ( ng/l)</b>	185,29 ± 84,67	185,45 ± 79,99	0,990
<b>TGFβ (ng/l)</b>	36,25 ± 38,96	50,45 ± 49,09	0,074**
<b>GM-CSF (ng/ml)</b>	12,55 ± 9,79	11,75 ± 6,29	0,698
<b>Leptina (ng/l)</b>	8160 ,87± 7626,63	7340,38 ± 5550,65	0,123
<b>Adiponectina (ng/ml)</b>	3841,87 ± 2284,48	3558,92 ± 2527,18	0,317

\*p<0,05 \*\* Tendencia a significación estadística ( p <0,1)

#### COHORTE TOTAL

En los pacientes con la dislipemia, la disminución de **IL-6** (p 0,053) y el incremento de los niveles de **TGFβ** (p 0,074) durante el estudio longitudinal tendían a ser estadísticamente significativos. Los restantes parámetros analizados (PCR, IL-8, MCP-1, GM-CSF, adiponectina, leptina) no se modificaron significativamente durante el estudio.

De entre todos estos parámetros, tan solo la variación de **MCP-1** durante el estudio difirió según el sexo, reduciéndose en los varones y aumentando en las mujeres (-25,11+/-103,77 vs 34,23+/-75,74, p 0,024).

#### \*Análisis de los pacientes según el fenotipo de las LDL

Los niveles iniciales de **GM-CSF** eran menores en los pacientes con fenotipo B de las LDLs respecto a los del fenotipo A de las mismas (11,92 ± 12,50 ng/ml vs 12,79 ± 2,98 ng/ml,p 0,010) pero los restantes parámetros inflamatorios y las citoquinas no diferían significativamente entre

ambos grupos ( PCR ( $3,31 \pm 4,10$  mg/l vs  $4,00 \pm 4,59$  mg/l, respectivamente, p 0,328)), IL-6 ( $1,17 \pm 1,14$  ng/l vs  $0,95 \pm 0,90$  ng/l, p 0,602), IL-8 ( $16,78 \pm 13,79$  ng/l vs  $13,90 \pm 15,81$  ng/l, p 0,274), TGF- $\beta$  ( $38,18 \pm 40,56$  ng/l vs  $34,34 \pm 38,35$  ng/l, p 0,667), MCP-1 ( $195,91 \pm 85,20$  ng/l vs  $173,10 \pm 85,58$  ng/l , p 0,193), leptina ( $7652,62 \pm 7747,7$  ng/l vs  $8145,22 \pm 7097,97$  ng/l, p 0,529) o adiponectina ( $3777,83 \pm 2300,1$  ng/ml vs  $4064,06 \pm 2263,94$  ng/ml, p 0,628).

Los individuos con **fenotipo B** inicial de las LDLs mostraron durante el estudio un descenso de la **leptina** (sign 0,029) sin cambios significativos en los restantes parámetros (PCR (p 0,306), IL-6 (p 0,170), IL-8 (p 0,453), TGF- $\beta$  (p 0,382), MCP-1 (p 0,548), GM-CSF (p 0,169), adiponectina (p 0,369)).

En las personas con HFC y **fenotipo A** inicial de las LDLs ninguno de los parámetros se modificó significativamente (PCR (p 0,530), IL-6 (p 0,168), IL-8 (p 0,808), TGF- $\beta$  (p 0,117), MCP-1 (p 0,515), GM-CSF (p 0,160), adiponectina (p 0,513), leptina (p 0,715)).

Al finalizar el estudio, el perfil de citoquinas y parámetros inflamatorios no era significativamente diferente en los del fenotipo B inicial respecto a aquellos con el fenotipo A (PCR  $3,12 \pm 3,90$  mg/l vs  $3,27 \pm 2,96$  mg/l, respectivamente, p 0,446), IL-6 ( $1,05 \pm 1,49$  ng/l vs  $0,71 \pm 0,46$  ng/l, p 0,553), IL-8 ( $14,50 \pm 8,08$  ng/l vs  $15,57 \pm 16,18$  ng/l, p 0,278), TGF- $\beta$  ( $43,65 \pm 44,33$  ng/l vs  $60,64 \pm 54,78$  ng/l, p 0,578), MCP-1 ( $184,80 \pm 83,04$  ng/l vs  $186,11 \pm 79,51$  ng/l, p 0,954), GM-CSF ( $10,49 \pm 7,71$  ng/ml vs  $13,43 \pm 3,40$  ng/ml, p 0,316), adiponectina ( $3388,66 \pm 1988,0$  ng/ml vs  $3832,95 \pm 3172,63$  ng/ml, p 0,486), leptina ( $6558,55 \pm 5009,12$  ng/l vs  $7747,04 \pm 5643,20$  ng/l, p 0,652).

### CORRELACIONES

A continuación detallamos en la tabla las correlaciones significativas de estos parámetros en nuestro estudio.

#### PCR

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>HDL-NEFA</b> (0,398)	<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo
<u>PCR Final</u> TC+: <b>HDL-Col</b> inicial (0,334, p 0,054). TC+: <b>Inh. Rf</b> final (0,236, p 0,096).	<u>PCR Final</u> TG iniciales (-0,291) TC-: <b>Talla</b> inicial (-0,243, p 0,092) TC-: <b>HDL-Tg</b> inicial (- 0,336, p 0,052)

IL-6

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Lp (a)</b> ( 0,320) <b>HDL</b> (0,274)	<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo
<u>IL-6 Final</u> <b>TG</b> finales (0,283) <b>NEFA</b> finales (0,358)	<u>IL-6 Final</u> <b>Tamaño LDL</b> final (-0,365)

IL-8

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>HDL A-I</b> ( 0,378)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Apo A-I</b> ( -0,307) TC-: <b>HDL A-II</b> ( - 0,323, p 0,051)
<u>IL-8 Final</u> <b>NEFA</b> (final (0,289), inicial (0,293)) <b>Cintura</b> final (0,295) TC+: <b>HDL A-II</b> final (0,304, p 0,068)	<u>IL-8 Final</u> TC-: <b>Lp (a)</b> (inicial (-0,239, p 0,079), final (-0,225, p 0,098)) TC-: <b>HDL A-I</b> final (-0,313, p 0,059)

TGF-β

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>HDL A-II</b> (0,329, p 0,050).	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>HDL-Col</b> (-0,371) <b>HDL-Fos</b> ( -0,380)
<u>TGFb Final</u> : no hubo	<u>TGFb Final</u> <b>HDL-Fos</b> inicial ( -0,377) TC-: <b>PON-1</b> final (-0,257, p 0,066)

MCP-1 :

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>VLDL</b> ( 0,344) TC+ : <b>Colesterol total</b> ( 0,255, p 0,063) TC+: <b>Colesterol no HDL</b> ( 0,259, p 0,059)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>PON-1</b> (-0,417) <b>HDL-NEFA</b> (-0,461) TC-: <b>▲Lag Phase</b> ( -0,236, p 0,096)
<u>MCP-1 Final</u> TC+: <b>▲Lag Phase</b> final (0,243, p 0,076)	<u>MCP-1 Final</u> : no hubo

GM-CSF :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>NEFAS</b> ( -0,505) <b>ApoB</b> (-0,463)
<u>GM-CSF Final</u> TC+: <b>Tamaño LDL</b> final (0,378, p 0,083) TC+: <b>LDL</b> inicial (0,361, p 0,098) TC+: <b>Apo B</b> inicial ( 0,361, p 0,099)	<u>GM-CSF Final</u> TC-: <b>TG</b> finales ( -0,413, p 0,056) TC-: <b>VLDL</b> final ( -0,401, p 0,064) <b>Apo B</b> final (-0,770) TC-: <b>Colesterol no HDL</b> final ( -0,400, p 0,065) <b>IMC</b> inicial (-0,527) TC-: <b>Cintura</b> inicial ( -0,433, p 0,072) <b>Insulinemia</b> (final (-0,498) e inicial( -0,562)) <b>LDL oxidada</b> final ( -0,458) TC-: <b>Inh.Rf</b> final ( -0,412, p 0,057)

LEPTINA :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>VLDL</b> (0,291) TC+: <b>Colesterol total</b> (0,252, p 0,068) TC+: <b>Colesterol no HDL</b> (0,260, p 0,060)	<u>Variación estudio longitudinal</u>
<u>Leptina Final</u> <b>Colesterol total</b> inicial (0,367) <b>Colesterol no HDL</b> inicial ( 0,304) <b>LDL</b> inicial ( 0,345) <b>Apo B</b> inicial( 0,324) <b>Cintura</b> (final (0,321) e inicial (0,320)) <b>IMC</b> (final ( 0,524) e inicial ( 0,542)) <b>Peso</b> (inicial ( 0,315)) TC+: <b>Peso</b> final (0,243, p 0,079) <b>Insulinemia</b> (inicial (0,419),final (0,545)) <b>HDL</b> inicial ( 0,297) <b>Apo A-I</b> inicial ( 0,289)	<u>Leptina Final</u> <b>Talla</b> (-0,413).

ADIPONECTINA :

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo	<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo
<u>Adiponectina Final</u> TC+: <b>Tamaño LDL</b> inicial (0,241, p 0,085) TC+: <b>Edad</b> inicial ( 0,269, p 0,052) <b>HbA1c</b> inicial ( 0,277) <b>Lp (a)</b> (inicial ( 0,361), final( 0,333)) <b>HDL</b> final (0,305) <b>Apo A-I</b> final (0,286) TC+: <b>LDL negativa</b> inicial (0,290, p 0,066)	<u>Adiponectina Final</u> <b>Cintura</b> inicial (-0,386) <b>Insulinemia</b> inicial (-0,322) TC-: <b>HDL A-II</b> inicial (-0,293, p 0,083) TC-: <b>LDL oxidada</b> final ( -0,233, p 0,099)

#### 4. MODIFICACIONES DE LAS LDL

##### COHORTE TOTAL

Se produjo a lo largo del estudio un aumento significativo del **tamaño de las LDLs** (pasando de un fenotipo B inicial como promedio a uno A final), una reducción de la **LDL oxidada** sin modificación significativa de la LDL negativa, no hallándose en ninguno de los casos diferencias según el sexo. La proporción inicial de sujetos con fenotipo B de LDL (57%) disminuyó con el tratamiento (26.3% final).

TABLA 21. COMPARATIVA MEDIAS MODIFICACIONES LDLs INICIO-FINAL DEL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>Tamaño LDL ( nm)</b>	25,33 ± 0,58	25,66 ± 0,47	0,000*
<b>LDL negativa ( %)</b>	7,10 ± 3,42	7,42 ± 3,53	0,525
<b>LDL oxidada (mUI)</b>	90,76 ± 24,77	69,47 ± 21,42	0,000*

\*p<0,05

##### \*Análisis de los pacientes según el fenotipo de las LDLs

Los pacientes con fenotipo B inicial de las LDLs lógicamente tenían al comienzo del estudio significativamente menor **tamaño de estas lipoproteínas** que los del fenotipo A ( $24,94 \pm 0,42$  nm vs  $25,85 \pm 0,24$  nm, respectivamente, p 0,000), pero no diferían ni en la LDL negativa ( $7,15 \pm 3,53$  % vs  $7,01 \pm 3,36$ %, p 0,897) ni en la LDL oxidada ( $93,25 \pm 24,95$  mUI/l vs  $87,71 \pm 25,29$  mUI/l, p 0,240 ) respecto a ellos pese a ser superior esta última en los primeros.

En las personas con **fenotipo B** inicial de las LDLs el tamaño de las dichas partículas aumentó (p 0,000) y la LDL oxidada disminuyó (p 0,003) sin variar su LDL negativa (p 0,504). Los individuos con **fenotipo A** inicial de las LDLs durante el estudio no modificaron el tamaño de estas partículas (p 0,614), pero redujeron su LDL oxidada (p 0,001) e incrementaron su LDL negativa (p 0,012) de modo significativo.

Al concluir el estudio, los pacientes con fenotipo B inicial de las LDLs seguían teniendo significativamente un menor **tamaño de estas lipoproteínas** ( $25,55 \pm 0,50$  nm vs  $25,81 \pm 0,40$  nm , respectivamente, p 0,043), tendían a una **LDL negativa** inferior ( $6,68 \pm 2,74$  % vs  $8,59 \pm 4,34$ %,

p 0,080) y la **LDL oxidada** era significativamente mayor ( $75,76 \pm 21,20$  mUI/l vs  $62,95 \pm 19,17$  mUI/l, p 0,028) que los del fenotipo A inicial de las partículas.

### CORRELACIONES

#### TAMAÑO DE LDL:

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>LDL</b> (0,308) <b>HDL</b> (0,341) <b>Apo A-II</b> (0,459) <b>▲Lag Phase</b> (0,424) TC+: <b>Inh. Rf</b> (0,267, p 0,054)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Triglicéridos</b> (-0,322) TC-: <b>VLDL</b> ( -0,249, p 0,064)
<u>Tamaño LDL Final</u> <b>Lp (a)</b> (inicial( 0,347),final (0,336)) <b>Apo A-I</b> inicial( 0,446) <b>HDL</b> inicial ( 0,282) TC+: <b>HDL</b> final ( 0,243, p 0,069) <b>LDL negativa</b> final (0,385) TC+: <b>GM-CSF</b> final ( 0,378, p 0,083) TC+: <b>Adiponectina</b> inicial ( 0,251, p 0,062)	<u>Tamaño LDL Final</u> <b>TG</b> (final( -0,535), inicial( -0,318)) <b>VLDL</b> (final(-0,319), inicial (-0,265)) <b>Insulinemia</b> inicial (-0,274) <b>HDL-Tg</b> inicial ( -0,426) TC-: <b>▲Lag Phase</b> final (-0,241, p 0,070) <b>IL-6</b> final (-0,365) TC-: <b>IL-8</b> inicial ( -0,224, p 0,094)

#### MODIFICACIONES OXIDATIVAS DE LDL: LDL NEGATIVA- LDL OXIDADA

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <u>LDL Negativa:</u> <b>LDL</b> (0,440) TC+: <b>Apo A-I</b> ( 0,283, p 0,063) TC+: <b>Apo A-II</b> (0,294, p 0,082)  <u>LDL Oxidada:</u> No hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <u>LDL Negativa:</u> <b>TG</b> (-0,372) <b>VLDL</b> (-0,487) <b>Insulinemia</b> ( -0,355) TC-: <b>Lp (a)</b> ( -0,286, p 0,059)  <u>LDL Oxidada:</u> <b>Colesterol total</b> (-0,301) <b>Colesterol no HDL</b> (- 0,296) <b>LDL</b> (-0,308) TC-: <b>HDL A-I</b> (-0,302, p 0,078) TC-: <b>PON-1</b> (-0,257, p 0,075)

MODIFICACIONES OXIDATIVAS DE LDL: LDL NEGATIVA- LDL OXIDADA

**Correlaciones +**

**Correlaciones -**

<p><u>LDL Negativa Final</u> <b>Lp (a)</b> (final (0,716) e inicial( 0,738)) <b>HDL PAF-AH</b> inicial ( 0,311) <b>% HDL PAF-AH</b> inicial (0,309) TC+: <b>HDL-Col</b> (final (0,308, p 0,057), inicial (0,284, p 0,079)) TC+: <b>Apo A-I</b> inicial ( 0,268, p 0,075) <b>HDL</b> inicial ( 0,387) TC+: <b>HDL</b> final ( 0,274, p 0,069) TC+: <b>Adiponectina</b> inicial ( 0,280, p 0,066)</p> <p><u>LDL Oxidada Final</u> TC+:<b>TG</b> final ( 0,250, p 0,071) TC+: <b>VLDL</b> (final ( 0,244, p 0,078), inicial ( 0,247, p 0,075)) <b>Colesterol no HDL</b> final (0,337) <b>LDL</b> final (0,279) TC+ :<b>Colesterol total</b> final (0,268, p 0,053) <b>HDL-NEFA</b>(final (0,381), inicial( 0,434)) TC+ : <b>Apo A-I</b> inicial( 0,238, p 0,086) <b>PCR</b> inicial (0,286)</p>	<p><u>LDL Negativa Final</u> <b>Insulinemia</b> inicial (-0,358)</p> <p><u>LDL Oxidada Final</u> TC-: <b>LDL</b> inicial (-0,259, p 0,062) TC-: <b>Peso</b> final (-0,239, p 0,085) <b>HDL-Col</b> inicial (-0,355) <b>GM-CSF</b> final (-0,458) TC-: <b>GM-CSF</b> inicial (-0,430, p 0,059) TC-: <b>Adiponectina</b> final ( -0,233, p 0,099)</p>
--	---



## 5. CARACTERÍSTICAS DE LAS HDLS

### COHORTE TOTAL

Los pacientes con HFC no presentaron modificaciones significativas en la proporción de apo A-I (HDL A-I) (p 0,734) ni en la de apo A-II (HDL A-II) en la masa de sus HDLs y tampoco las concentraciones plasmáticas de la apo A-II, si bien los niveles de **apo A-I** tendieron a aumentar discretamente (P 0,071). En estos sujetos se observaron cambios en el lipidoma de sus HDLs: disminuyó significativamente su **contenido de triglicéridos** y su **contenido en NEFAS**, sin modificarse significativamente su contenido en colesterol mientras su **contenido en fosfolípidos** tendía a reducirse ( p 0,072).

TABLA 22-A. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS DE LAS HDLS INICIO-FINAL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>Apo A-I (g/L)</b>	1,48 ± 0,50	1,49 ± 0,26	0,071**
<b>Apo A-II (mg/dl)</b>	39,14 ± 6,87	40,37 ± 8,95	0,372
<b>HDL-col (%)</b>	15,26 ± 2,12	15,16 ± 3,19	0,819
<b>HDL-Tg (%)</b>	6,39 ± 1,92	4,97 ± 1,70	0,000*
<b>HDL-fos (%)</b>	32,15 ± 2,74	30,60 ± 5,26	0,072**
<b>HDL-NEFA (%)</b>	1,33 ± 1,12	1,12 ± 0,93	0,038
<b>HDL A-I (%)</b>	32,12 ± 4,36	32,50 ± 6,49	0,734
<b>HDL A-II (%)</b>	14,09 ± 2,02	16,77 ± 12,91	0,217

\*p<0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p < 0,1)

En cuanto a la evolución de la actividad enzimática a lo largo del estudio, la actividad **PON-1** tendió a aumentar (p 0,082), la **proporción de PAF-AH de las HDLs** aumentó significativamente, mientras que tanto la **actividad PAF-AH total** como la **actividad PAF-AH en las HDLs** descendieron significativamente. Durante el estudio se redujo significativamente el **incremento de la fase de latencia (Lag Phase) de oxidación** sin modificarse la inhibición del Rf. Ninguna de las variaciones observadas diferían según el sexo.

TABLA 22-B. COMPARATIVA CARACTERÍSTICAS DE LAS HDLS INICIO-FINAL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)

	INICIO	FINAL	P
<b>PON 1</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	70,65 $\pm$ 23,90	75,80 $\pm$ 26,96	0,082**
<b>PAF-AH total</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	27,28 $\pm$ 8,80	21,58 $\pm$ 7,22	0,000 *
<b>HDL PAF-AH</b> ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ )	10,89 $\pm$ 4,03	9,42 $\pm$ 3,12	0,003*
<b>% HDL PAF-AH</b> (%)	40,62 $\pm$ 11,45	45,10 $\pm$ 11,93	0,016 *
<b>▲ Lag Phase</b> (min)	82,15 $\pm$ 27,80	70,71 $\pm$ 23,26	0,003*
<b>Inh. Rf (%)</b>	27,91 $\pm$ 8,74	27,00 $\pm$ 9,28	0,454

\*p <0,05 \*\*Tendencia a significación estadística (p <0,1)

\*Análisis de los pacientes según el fenotipo de las LDLs:

- Proteoma de las HDLs

Los sujetos con HFC y fenotipo B de LDL tenían inicialmente respecto en los del fenotipo A significativamente menos **proporción de apo A-I (HDL A-I)** en sus HDLs (31,03  $\pm$  3,41 % vs 34,08  $\pm$  5,33 %, p 0,038) y niveles plasmáticos inferiores de **apo A-I** (1,41  $\pm$  0,63 g/l vs 1,58  $\pm$  0,24 g/l, p 0,001) sin mostrar diferencias en la proporción de apo A-II (HDL A-II) en la masa de estas lipoproteínas (14,38  $\pm$  2,06 % vs 13,48  $\pm$  1,91 %, p 0,194) ni en las concentraciones de apo A-II (38,24  $\pm$  7,43 mg/dl vs 40,60  $\pm$  6,04 mg/dl, p 0,229).

Las personas con HFC y **fenotipo B** inicial de LDLs presentaron a lo largo del estudio un aumento de los niveles plasmáticos de apo A-I (p 0,007) y de apo A-II (p 0,003), sin variación de su contenido proporcional en las HDLs (HDL A-I (p 0,739), HDL A-II (p 0,097)).

Los individuos con la dislipemia genética y **fenotipo A** inicial de las LDLs disminuyero sus concentraciones plasmáticas de apo A-II (p 0,012) sin modificación de las de apo A-I (p 0,392) ni las proporciones del contenido de ambas lipoproteínas en las HDLs (HDL A-I (p 0,884), HDL A-II (p 0,830)).

Una vez concluido el estudio aquellos con fenotipo B inicial de las mismas, en relación a los del fenotipo A, tenían una mayor contenido proporcional de apo A-II en sus HDLs (**HDL A-II**) ( $18,68 \pm 16,23$  % vs  $13,57 \pm 1,84$  %, respectivamente, p 0,012) y niveles plasmáticos superiores de **Apo A-II** ( $43,65 \pm 10,20$  mg/dl vs  $36,04 \pm 4,18$  mg/dl, p 0,001), sin diferir en su proporción de apo A-I (HDL A-I) en estas partículas ( $31,59 \pm 7,68$  vs  $33,89 \pm 3,82$ , p 0,304) ni en las concentraciones plasmáticas de apo A-I ( $1,45 \pm 0,24$  g/l vs  $1,54 \pm 0,27$  g/l, p 0,219).

- Lipidoma de las HDLs

Inicialmente los pacientes con fenotipo B de LDLs tenían en sus HDLs, en relación a los del fenotipo A, menor **contenido de colesterol** ( $14,58 \pm 1,94$  % vs  $16,17 \pm 1,96$  %, p 0,021), mayor **contenido de triglicéridos** ( $7,28 \pm 1,86$  % vs  $4,93 \pm 0,93$  %, p 0,000) y mayor **contenido de NEFAS** ( $1,68 \pm 1,28$  % vs  $0,80 \pm 0,40$  %, p 0,004), sin diferenciarse en su contenido de fosfolípidos ( $32,73 \pm 2,82$  % vs  $31,34 \pm 2,46$  %, p 0,134).

En las personas con HFC y **fenotipo B** inicial de LDLs la terapéutica redujo el contenido de triglicéridos de sus HDLs (p 0,000) sin variar el contenido en colesterol (p 0,504), el contenido en NEFAS (p 0,221) ni el contenido en fosfolípidos (p 0,109).

Por su parte, en aquellos con **fenotipo A** inicial de las LDLs no se modificó significativamente el lipidoma de sus HDLs (contenido en colesterol (p 0,329), contenido de triglicéridos (p 0,465), contenido en NEFAS (p 0,964), contenido en fosfolípidos (p 0,884)).

Al finalizar el estudio, los sujetos con fenotipo B inicial de LDL en sus HDLs tenían, en comparación con los del fenotipo A, un menor **contenido de colesterol** ( $14,18 \pm 3,49$  % vs  $16,67 \pm 1,86$  %, p 0,018) sin diferenciarse en el contenido de triglicéridos ( $5,24 \pm 1,96$  % vs  $4,64 \pm 1,07$  %, p 0,292), de NEFAS ( $1,34 \pm 1,08$  % vs  $0,80 \pm 0,44$  %, p 0,315) ni de fosfolípidos ( $30,31 \pm 6,58$  % vs  $31,23 \pm 1,77$  %, p 0,880).

- Actividad enzimática en las HDLs

Al comienzo del estudio los sujetos con fenotipo B de LDLs, en relación a los del fenotipo A, tendían a tener más actividad **PON-1** ( $75,48 \pm 28,04$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $62,71 \pm 13,82$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,066) sin mostrar diferencias significativas en la proporción de PAF-AH de sus HDLs ( $41,30 \pm 10,80$  % vs  $39,50 \pm 12,65$  %, p 0,633), en la actividad PAF-AH de sus HDLs ( $10,89 \pm 4,68$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $10,80 \pm 3,13$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,954) ni en la actividad PAF-AH total ( $26,18 \pm 8,91$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $28,66 \pm 8,83$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,333).

Durante el estudio, en los individuos con **fenotipo B** inicial de LDLs la actividad PON-1 tendió a aumentar (p 0,076), la actividad PAF-AH total se redujo (p 0,002), la actividad PAF-AH de las HDLs disminuyó (p 0,020) y no se modificó la proporción de PAF-AH de las HDLs (p 0,471).

En aquellos con **fenotipo A** inicial de las LDLs el tratamiento produjo una reducción de la **actividad PAF-AH total** (p 0,000) y de la **actividad PAF-AH de las HDLs** (p 0,041) y un incremento de la **proporción de PAF-AH de las HDLs** (p 0,008), sin variar significativamente la actividad PON-1 (p 0,484).

Al finalizar el estudio y en relación a aquellos con fenotipo A inicial de las LDLs, los pacientes con fenotipo B inicial tenían significativamente más actividad **PON-1** ( $82,14 \pm 27,97$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $66,29 \pm 23,65$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,029), sin diferir en la proporción de PAF-AH de las HDLs ( $43,08 \pm 11,53\%$  vs  $47,30 \pm 12,26\%$ , p 0,120), la actividad PAF-AH de las HDLs ( $8,99 \pm 3,19$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $9,94 \pm 3,08$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,212) ni en la actividad PAF-AH total ( $21,51 \pm 6,93$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$  vs  $21,79 \pm 7,87$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ , p 0,947). Aún no siendo significativas las diferencias, la proporción de PAF-AH de las HDLs y la actividad PAF-AH en estas lipoproteínas era menor en aquellos con el fenotipo B de las LDLs.

- Capacidad antioxidativa de las HDLs

Al inicio del estudio aquellos con un fenotipo B de LDL tendían a tener un mayor **incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación** ( $87,01 \pm 26,22$  min vs  $73,97 \pm 27,79$  min, respectivamente, p 0,086) que los del fenotipo A, sin mostrar diferencias en la inhibición del Rf entre ambos grupos ( $28,88 \pm 8,71\%$  vs  $25,87 \pm 7,99\%$ , p 0,202).

En los pacientes con **fenotipo B** de LDLs se redujo el **incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación** (p 0,001) sin variar su capacidad de inhibición del Rf (p 0,455). En aquellos con **fenotipo A** de LDLs no se modificaron ni el incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación (p 0,992) ni la inhibición del Rf (p 0,808) a lo largo del estudio.

Al concluir el estudio, los individuos con fenotipo B inicial de LDL no mostraron diferencias significativas respecto a los del fenotipo A ni en el incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación ( $69,12 \pm 25,03$  min vs  $73,93 \pm 20,77$  min, p 0,706) ni en la inhibición del Rf ( $27,59 \pm 9,42\%$  vs  $26,27 \pm 9,44\%$ , p 0,759).

## CORRELACIONES

A continuación detallamos en la tabla las correlaciones significativas de estos parámetros en nuestro estudio.

### PROPORCIÓN DE CONTENIDO DE APO A-I EN LAS HDLS (HDL A-I):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>IL-8</b> (0,378)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>LDL oxidada</b> (-0,302, p 0,078)
<u>HDL A-I Final</u> <b>HDL PAF-AH</b> inicial ( 0,368) TC+: % <b>HDL PAF-AH</b> inicial (0,305, p 0,062) <b>IL-8</b> inicial (0,371)	<u>HDL A-I Final</u> <b>Colesterol total</b> final (-0,361) <b>Colesterol no HDL</b> final (-0,366) <b>LDL</b> final (-0,447) <b>Apo B</b> final (-0,360) TC-: <b>IL-8</b> final (-0,313, p 0,059)

### APOLIPOPROTEINA A-II (APO A-II):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Tamaño LDL</b> ( 0,459) <b>Colesterol total</b> (0,351) <b>LDL</b> ( 0,509) TC+: <b>Colesterol no HDL</b> (0,265, p 0,066) TC+: <b>Apo B</b> (0,266, p 0,065) <b>HDL</b> (0,682) TC+: <b>PAF-AH total</b> ( 0,280, p 0,052) TC+: <b>LDL negativa</b> (0,294, p 0,082)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>TG</b> (-0,435) <b>VLDL</b> (-0,365)
<u>Apo A-II Final</u> <b>TG</b> (final ( 0,282), inicial ( 0,522)) <b>NEFA</b> final ( 0,300) TC+: <b>NEFA</b> inicial ( 0,254, p 0,078) <b>VLDL</b> inicial (0,386) <b>Colesterol total</b> final (0,472) <b>Colesterol no HDL</b> final ( 0,431) <b>LDL</b> final ( 0,448) TC+: <b>Apo B</b> final ( 0,253, p 0,073) <b>Edad</b> inicial ( 0,309) TC+: <b>Adiponectina</b> inicial (0,247, p 0,084)	<u>Apo A-II Final</u> <b>Tamaño LDL</b> inicial (-0,466) <b>LDL</b> inicial (-0,348) <b>Peso</b> (final (-0,299), inicial (-0,321)) <b>Cintura</b> inicial (-0,359) TC-: <b>HDL PAF-AH</b> final (-0,270, p 0,055) TC-: <b>PAF-AH total</b> inicial (-0,250, p 0,080)

APOLIPOPROTEINA A-I (APO A-I):

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> TC+: <b>LDL negativa</b> (0,283, p 0,063)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>% HDL PAF-AH</b> (-0,235, p 0,083) <b>IL-8</b> (-0,307)
<u>Apo A-I Final</u> <b>Colesterol total</b> (final (0,352), inicial (0,275)) TC +: <b>LDL</b> inicial (0,223, p 0,095) <b>HDL</b> (final (0,931), inicial (0,652)) <b>Adiponectina</b> (inicial (0,367), final (0,286))	<u>Apo A-I Final</u> <b>Cintura</b> (final (-0,310), inicial (-0,352)) TC -: <b>Peso</b> final (-0,226, p 0,090) TC-: <b>Insulinemia</b> inicial (-0,237, p 0,081) <b>HDL PAF-AH</b> final (-0,287) <b>Inh. Rf</b> (inicial (-0,284), final (-0,283))

PROPORCIÓN DE CONTENIDO DE APO A-II EN LAS HDLS (HDL A-II):

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>Peso</b> (0,379) <b>IMC</b> (0,391) TC+: <b>TGFβ</b> (0,329, p 0,050)	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>IL-8</b> (-0,323, p 0,051)
<u>HDL A-II Final</u> <b>Colesterol total</b> final ( 0,363) <b>Colesterol no HDL</b> final (0,353) <b>LDL</b> final ( 0,421) <b>Apo B</b> final(0,409) <b>TGFβ</b> inicial (0,386) TC+: <b>IL-8</b> final (0,304, p 0,068)	<u>HDL A-II Final</u> <b>Peso</b> inicial (-0,558) <b>Cintura</b> inicial (-0,456) TC-: <b>HDL PAF-AH</b> (final ( - 0,315, p 0,054) , inicial ( -0,318, p 0,052))

CONTENIDO EN COLESTEROL DE LAS HDLS (HDL-COL):

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>TGFβ</b> (-0,371)
<u>HDL-Col Final</u> <b>LDL</b> inicial (0,357) <b>HDL PAF-AH</b> (final (0,502), inicial (0,478)) <b>PAF-AH total</b> inicial ( 0,380) TC+: <b>% HDL PAF-AH</b> final (0,287,p 0,081) TC+: <b>LDL negativa</b> final (0,308, p 0,057)	<u>HDL-Col Final</u> <b>Colesterol no HDL</b> final (-0,357) <b>LDL</b> final (-0,336) <b>Apo B</b> final (-0,438) TC-: <b>Colesterol total</b> final (-0,301, p 0,063).

CONTENIDO EN NEFAS DE LAS HDLS (HDL-NEFA):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>PCR</b> (0,398)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>VLDL</b> (-0,431) <b>Colesterol total</b> (-0,368) <b>Colesterol no HDL</b> (-0,345) <b>MCP-1</b> (-0,461)
<u>HDL-NEFA Final</u> TC+: <b>TG</b> iniciales (0,285, p 0,079) <b>Colesterol no HDL</b> final (0,363) <b>LDL</b> final (0,429) <b>Apo B</b> final (0,411) TC+: <b>Colesterol total</b> final (0,312, p 0,054) <b>Edad</b> inicial (0,389) <b>LDL oxidada</b> final (0,381)	<u>HDL-NEFA Final:</u> <b>Tamaño de LDL</b> inicial (-0,478) <b>LDL</b> inicial (-0,389) <b>Talla</b> inicial (-0,327) <b>Peso</b> (inicial (-0,441) TC-: <b>Peso</b> final (-0,285, p 0,079)) <b>PAF-AH total</b> inicial (-0,352) <b>HDL PAF-AH</b> inicial (-0,479) TC-: <b>HDL</b> inicial (-0,274, p 0,091) TC-: <b>IL-8</b> inicial (-0,315, p 0,051)

CONTENIDO EN FOSFOLÍPIDOS DE LAS HDLS (HDL-FOS):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>TGFβ</b> (-0,380)
<u>HDL-Fos Final:</u> no hubo	<u>HDL-Fos Final</u> TC-: <b>Colesterol total</b> final (-0,269, p 0,098) TC-: <b>LDL</b> final (-0,274, p 0,091) TC-: <b>Apo B</b> final (-0,305, p 0,059) <b>TGFβ</b> inicial (-0,435) <b>Adiponectina</b> inicial (-0,368)

CONTENIDO EN TRIGLICÉRIDOS DE LAS HDLS (HDL-TG):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>LDL</b> ( 0,513) TC+: <b>Apo B</b> (0,308, p 0,056) <b>HDL</b> ( 0,483)	<u>Variación estudio longitudinal</u> <b>TG</b> (-0,648) <b>VLDL</b> ( -0,541)
<u>HDL-TG Final</u> TC+: <b>TG</b> finales ( 0,277, p 0,087) <b>LDL negativa</b> inicial ( 0,337)	<u>HDL-TG Final</u> TC-: <b>HDL</b> final ( -0,297, p 0,067) TC-: <b>GM-CSF</b> inicial ( -0,611, p 0,081)

ACETILHIDROLASA DEL FACTOR ACTIVADOR DE LAS PLAQUETAS (PAF-AH):

<b>Correlaciones +</b>	<b>Correlaciones -</b>
<p><u>Variación estudio longitudinal</u>  <u>PAF-AH Total</u>  <b>Colesterol total</b> (0,358)  <b>LDL</b> (0,388)  <b>Colesterol no HDL</b> (0,347)  <b>Apo B</b> ( 0,382)                      TC+: <b>Apo A-II</b> ( 0,280, p 0,052)</p> <p><u>HDL PAF-AH</u>  <b>Colesterol total</b> (0,318)  <b>Colesterol no HDL</b> (0,315)  <b>MCP-1</b> (0,278)</p> <p><u>% HDL PAF-AH</u>                      TC+: <b>Leptina</b> (0,261, p 0,064)</p>	<p><u>Variación estudio longitudinal</u>  <u>PAF-AH Total:</u> no hubo</p> <p><u>HDL PAF-AH:</u> no hubo</p> <p><u>% HDL PAF-AH</u>                      TC-: <b>Apo A-I</b> (-0,235, p 0,083)</p>
<p><u>PAF-AH Total Final</u>  <b>Apo B</b> final (0,265)  <b>Peso</b> (final (0,330), inicial( 0,368))  <b>Talla</b>( 0,270)                      TC+: <b>HDL-Col</b> inicial (0,314, p 0,055)  <b>▲Lag Phase</b> final (0,374)                      TC+: <b>▲Lag Phase</b> inicial ( 0,253, p 0,067)  <b>Inh. Rf</b> (inicial ( 0,477), final ( 0,337))                      TC+: <b>IL-8</b> inicial (0,243, p 0,072)</p> <p><u>HDL PAF-AH Final</u>  <b>HDL-Col</b> (inicial (0,378), final (0,502))  <b>Inh. Rf</b> inicial (0,392)                      TC+: <b>Inh. Rf</b> final ( 0,252, p 0,061)</p> <p><u>%HDL PAF-AH Final</u>                      TC+: <b>HDL-Col</b> final (0,287, p 0,081)                      TC+: <b>Apo A-II</b> inicial (0,241, p 0,080)  <b>IL-6</b> inicial (0,321)</p>	<p><u>PAF-AH Total Final</u>  <b>HbA1c</b> inicial (-0,324)  <b>HDL</b> final (-0,265)                      TC-: <b>HDL</b> inicial (-0,251, p 0,062)  <b>Edad</b> (-0,280)                      TC-: <b>LDL oxidada</b> inicial ( -0,261, p 0,052)                      TC-: <b>GM-CSF</b> final (-0,426 , p 0,054)</p> <p><u>HDL PAF-AH Final</u>  <b>Edad</b> inicial ( -0,389)  <b>HbA1c</b> final (-0,288)  <b>HDL</b> final (-0,270)  <b>Apo A-I</b> final (- 0,287)                      TC-: <b>Apo A-I</b> inicial (-0,234, p 0,082)                      TC- :<b>Apo A-II</b> final (- 0,270, p 0,055)                      TC-: <b>HDL A-II</b> final ( -0,315,p 0,054)  <b>LDL oxidada</b> inicial(-0,283)  <b>Adiponectina</b> final (-0,364 )</p> <p><u>% HDL PAF-AH Final</u>  <b>Apo B</b> final (-0,290)                      TC-: <b>LDL</b> final (-0,226, p 0,095)                      TC-:<b>HbA1c</b> final (-0,235, p 0,082)</p>



PARAOXONASA-1 (PON-1):

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal:</u> no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> TC-: <b>LDL oxidada</b> (-0,257, p 0,075) <b>MCP-1</b> (-0,417)
<u>PON-1 Final</u> <b>LDL</b> final (0,323) <b>Apo B</b> final( 0,325) TC+: <b>Colesterol no HDL</b> final(0,242, p 0,075) <b>TGFβ</b> inicial (0,274)	<u>PON-1 Final</u> TC-: <b>HDL</b> final ( -0,230, p 0,092) TC-: <b>TGFβ</b> final (-0,257, p 0,066)

PARÁMETROS DE CAPACIDAD ANTIOXIDATIVA DE LAS HDLS:  
▲LAG PHASE- INHIBICIÓN RF

Correlaciones +	Correlaciones -
<u>Variación estudio longitudinal</u> <u>▲Lag Phase</u> :no hubo  <u>Inhibición Rf</u> : no hubo	<u>Variación estudio longitudinal</u> <u>▲Lag Phase</u> TC-: <b>MCP-1</b> (-0,236, p 0,096)  <u>Inhibición Rf</u> : TC-: <b>TG</b> (-0,234, p 0,089) <b>Lp (a)</b> (-0,311)
<u>▲ Lag Phase Final</u> <b>PAF-AH total</b> (final (0,374), inicial (0,447)) TC+: <b>MCP-1</b> final (0,243, p 0,076)  <u>Inhibición Rf final</u> <b>Peso</b> inicial (0,296) TC+: <b>Peso</b> final (0,246, p 0,065) TC+ : <b>Cintura</b> inicial (0,268, p 0,075) <b>PAF-AH total</b> final (0,337) TC+: <b>PAF-AH total</b> inicial (0,237, p 0,078) TC+: <b>HDL PAF-AH</b> final (0,252, p 0,061) TC+: <b>PCR</b> final (0,236, p 0,096) TC+: <b>IL-8</b> inicial (0,247, p 0,064)	<u>▲Lag Phase Final</u> <b>Apo A-I</b> inicial ( -0,299) <b>% HDL PAF-AH</b> inicial ( -0,305)  <u>Inhibición Rf final</u> <b>Edad</b> inicial (-0,265) <b>Apo A-I</b> (final (-0,283), inicial (-0,330)) <b>HDL</b> final (-0,279) TC-: <b>GM-CSF</b> final (-0,412, p 0,057)

## **DISCUSIÓN**



# **1. CARACTERIZACIÓN METABÓLICA DE LOS SUJETOS CON HFC**

La hiperlipemia familiar combinada es una dislipemia genética cuyas manifestaciones son producto de la interacción de un sustrato genético y determinados factores ambientales lo que se traduce en una significativa variación fenotípica tanto interindividual como intraindividual.

En nuestro estudio, respecto a los sujetos controles sin dislipemia, los pacientes con HFC tenían más edad y presentaban globalmente sobrepeso, mostrando mayores IMC y perímetro de cintura abdominal. Asimismo, la insulinemia y la HbA1c eran significativamente superiores en el conjunto de los pacientes con HFC y también en sus subgrupos según el fenotipo de las LDL (B ó A) o según el fenotipo lipídico (hipertrigliceridémico, hipercolesterolémico o mixto), respecto a los individuos control. Estos resultados confirman la ampliamente demostrada coexistencia de obesidad abdominal y resistencia a la insulina en los pacientes con HFC.

Las personas con HFC presentaban mayores niveles plasmáticos de triglicéridos y variables relacionadas (cVLDL, NEFAS), así como de cLDL, colesterol total, colesterol no HDL y apo B, independientemente del fenotipo lipídico que mostrasen o de su fenotipo de las LDLs. Las concentraciones plasmáticas de cHDL eran inferiores a las de los sujetos sin la dislipemia fuese cual fuese su fenotipo de LDL o su fenotipo lipídico. Los niveles plasmáticos de Lp (a) tendían a ser superiores en los individuos con HFC a los de los controles en base a los que pacientes que presentaban fenotipo hipercolesterolémico o mixto o un fenotipo A de las LDLs.

Los rasgos lipídicos del trastorno permiten establecer tres fenotipos lipídicos básicos que incluyen alteraciones metabólicas asociadas a la hipercolesterolemia (fenotipo IIa), aquellas ligadas a la hipertrigliceridemia (fenotipo IV) y una expresión fenotípica que combina características ligadas a ambas (fenotipo II b). En la cohorte de pacientes que analizamos en el estudio transversal el fenotipo era hipertrigliceridémico en un 27.4 %, hipercolesterolémico en un 49% y mixto en un 23.6%. Finalmente, el tamaño de las LDLs era significativamente inferior en los individuos con hiperlipemia familiar combinada, especialmente en los de fenotipo hipertrigliceridémico o mixto.

La **hipertrigliceridemia** representa un rasgo fenotípico básico y característico de la hiperlipemia familiar combinada y se halla vinculado a la presencia de concentraciones aumentadas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLs). Acorde con ello, las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, cVLDLs y NEFAS en los pacientes, a diferencia de los controles sanos, estaban elevadas y eran significativamente mayores a las de éstos. Los subgrupos de pacientes tanto según su fenotipo de las LDLs (B ó A) como por su fenotipo lipídico (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia o mixto) también tenían niveles significativamente superiores de triglicéridos, cVLDL y NEFAS a los de los individuos sanos.

El pool plasmático de triglicéridos es un balance entre la tasa de producción y la tasa de excreción fraccionada de los mismos (FCR). En los pacientes con hiperlipemia familiar combinada se ha evidenciado una sobreproducción de VLDLs ricas en triglicéridos como causa principal de la hipertrigliceridemia, pero también coexiste una disminución del aclaramiento de las mismas acentuando la severidad del cuadro.

Entre los genes afectos que se han relacionado con la hiperlipemia familiar combinada se hallan los del USF1, el de la apo E, el de la lipoproteinlipasa, el de la angiopoyetina-like 3 (ANGPTL3), el del FABP2, el de la lipasa hepática, el de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), el de lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT) o el cluster génico apo A1-C3-A4-A5 (11) que pueden tener un papel en el metabolismo de estas partículas. El ANGPTL3 influye en la actividad de la LPL, la secreción de VLDL y la lipólisis, estando fuertemente relacionado con las concentraciones de triglicéridos (429) e inhibe la actividad de la LPL (430). Las variantes del gen USF1 pueden afectar al metabolismo hepático de los triglicéridos modulando la expresión de la proteína transferidora de triglicéridos microsomal inducida por la proteína FOXA2 (Forkhead Box Protein A2). (12). La apo E facilita la unión de la partícula de VLDL a los receptores de superficie celular durante el proceso de eliminación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. El FABP2 está implicado en la captación, metabolismo y transporte de los ácidos grasos de cadena larga. El cluster génico apo A1-C3-A4-A5 interviene en la producción de Apo A-I (que es cofactor de la LCAT), de apo C-III ( que se halla en las VLDLs e inhibe tanto a la LPL como a la LCAT), de apo A-IV ( con papel en la formación intestinal de quilomicrones) y de apo A-V (que es un factor estabilizador de la apo C-II, la cual es necesaria para una lipólisis correcta de la VLDL por la LPL). (11).

Se han publicado evidencias de un menor catabolismo de las VLDLs en la hiperlipemia familiar combinada mediado por alteraciones en la actividad de la lipoproteinlipasa (25), LCAT (26) y/o lipasa hepática (27). Además la actividad de la LPL puede estar disminuida por las elevadas concentraciones de ácidos grasos que la inhiben o a la resistencia insulínica a la cual con frecuencia se asocia esta dislipemia genética. La insulinoresistencia, aparte de disminuir la actividad de la LPL, puede regular negativamente la expresión del receptor de LDL, disminuyendo la lipólisis y la eliminación de las partículas remanentes. La obesidad puede contribuir a la hipertrigliceridemia aumentando la producción lo que da lugar a esteatosis hepática e incrementando los niveles plasmáticos de apo C-III. Sin embargo, como hemos comentado previamente, la alteración primaria es el aumento de la síntesis hepática de apo B y de VLDLs en la mayoría de los casos. Aunque su origen no es del todo bien conocido, un mecanismo probable de la misma es el aumento de las concentraciones de ácidos grasos libres (AGLs) que producen una elevación de la síntesis y secreción de las lipoproteínas a nivel hepático a través de un incremento de la expresión del gen de

la apo B. En las formas hipertrigliceridémicas de hiperlipemia familiar combinada se ha descrito un tejido adiposo disfuncional. El almacenamiento de los AGLs en el adipocito en forma de triglicéridos está mediado por la ASP (proteína estimuladora de la acilación) formada a partir del factor del complemento C3 generado por el adipocito. La ASP es modulada por la insulina. La hidrólisis de los triglicéridos del adipocito liberando AGLs a plasma tiene lugar por la HSL (lipasa hormonosensible) que puede ser estimulada por las catecolaminas e inhibida por la insulina. Se ha planteado una disfunción del tejido adiposo en esta enfermedad con un déficit de almacenamiento lipídico (debido al hiperinsulinismo y a una respuesta ASP disminuida o retrasada) y de la lipólisis (por actividad reducida de la HSL) lo cual favorecería que el flujo de AGLs se dirigiese directamente hacia el hígado donde mediaría la síntesis aumentada de apo B y VLDL. El hallazgo de una respuesta postprandial disminuida y posiblemente retrasada de C3, que es el precursor de la ASP activa, o incluso de resistencia a la misma y en algunas poblaciones de HFC de una disminución marcada de la actividad de la HSL con notoria resistencia al efecto lipolítico de las catecolaminas en el adipocito concordante con los hallazgos del perfil lipídico apoyan este planteamiento. (52),(431). La conocida interrelación de la obesidad y la insulinoresistencia con los triglicéridos y los NEFAS se corroboró en los hallazgos de nuestro estudio.

Se evidenció una correlación negativa de los triglicéridos y variables asociadas con el tamaño de las LDLs, siendo todos ellos significativamente mayores en los pacientes con fenotipo B de las LDLs respecto a los del fenotipo A de las mismas. Analizando el fenotipo lipídico de los pacientes, los niveles de triglicéridos, VLDLs y NEFAS eran significativamente menores en los pacientes hipercolesterolémicos respecto a los del fenotipo hipertrigliceridémico o mixto. Los sujetos con fenotipo hipertrigliceridémico y los del fenotipo mixto no difirieron significativamente en estos parámetros. La cantidad total de lípido en las LDLs y la presente en su núcleo determinan su densidad y tamaño. Así, la presencia de más triglicéridos y menos ésteres de colesterol dan lugar a LDL más pequeñas y más densas, un hecho que se suele propiciar en las situaciones de hipertrigliceridemia. Se ha asociado el fenotipo B de las LDLs con un incremento del doble en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos (158) hallándose correlación positiva entre el contenido de triglicéridos de las LDLs en los sujetos con fenotipo B de las LDLs y los niveles de triglicéridos plasmáticos (162). En situaciones de hipertrigliceridemia, las VLDLs ricas en triglicéridos son modificadas intravascularmente tras interactuar con la lipoproteinlipasa (LPL), la lipasa hepática y la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) dando lugar mayoritariamente a partículas de LDL pequeñas y densas. La CETP facilita un intercambio de ésteres de colesterol por triglicéridos entre la VLDL y la LDL. Posteriormente la lipasa hepática produce una hidrólisis en la LDL transformándola en una forma pequeña y densa (155) (158). Estos argumentos explicarían el hallazgo entre los sujetos con el fenotipo de LDLs pequeñas y

densas de niveles plasmáticos más elevados de triglicéridos, así como de las VLDLs y de los NEFAS.

Las concentraciones de colesterol total, cLDL, colesterol no HDL y de apo B eran superiores en los individuos con HFC a las de las personas sin la dislipemia, tanto en el conjunto de los sujetos como en sus subgrupos según fenotipo B ó A de las LDLs. El cLDL era significativamente menor en los hipertriglicéridémicos respecto a los de fenotipo mixto y a los hipercolesterolémicos, pero no diferían significativamente en los sujetos con fenotipo mixto respecto a los hipercolesterolémicos. El cLDL era superior al de los controles sanos en los pacientes con fenotipo hipercolesterolémico o mixto. La apolipoproteína B (apo B) aumentada constituye uno de los rasgos más robustamente asociados a la hiperlipemia familiar combinada hallándose elevada por encima del percentil 90 en un 80% de los sujetos con la enfermedad (47). Todos los subgrupos fenotípicos lipídicos de pacientes (hipertriglicéridémico, hipercolesterolémico o mixto) y los de fenotipo de las LDLs (B ó A) presentaban significativamente mayores niveles de apo B que los controles sanos. Ello refleja el incremento del número total de partículas aterogénicas presentes en los pacientes con HFC que contienen apo B (quilomicrones, VLDL, IDL y LDL). Entre los pacientes, la apo B era superior en aquellos con fenotipo lipídico mixto.

La **hipercolesterolemia** es un parámetro usado como criterio de definición de la enfermedad y, dentro del contexto de heterogeneidad de la enfermedad, puede aparecer bien en coexistencia con la hipertriglicéridemia o como fenotipo predominante.

Se han realizado diversos estudios evaluando si la hipercolesterolemia ligada a la HFC tenía un mecanismo fundamentalmente absorbivo, si predominaba un aumento de la síntesis hepática o ambos. Para ello se han medido en plasma marcadores de la absorción fraccionada intestinal de colesterol (los esteroides vegetales derivados de la dieta: campesterol y sitosterol o el residuo de ácido biliar colestanol), de su síntesis hepática (escualeno, latosterol y desmosterol) o de la síntesis de ácido biliar (el 7 $\alpha$  hidroxicolesterol y el 27-hidroxicolesterol). Un estudio con 38 pacientes con HFC (mayoritariamente varones) en 2007 sugería alteraciones en la absorción del colesterol en este trastorno al hallar cocientes de campesterol/colesterol y sitosterol/colesterol inferiores en estos pacientes a los controles sin evidenciar diferencias en el cociente de latosterol/colesterol (35). Posteriormente, en 2010, en un estudio transversal, esta vez con 103 pacientes con HFC y 240 familiares normolipémicos de 32 familias con HFC, se evidenciaron alteraciones en la síntesis de colesterol en los afectados (tanto hombres como mujeres) por la dislipemia, con niveles significativamente superiores de desmosterol (un 31% total y un 6% en el cociente desmosterol/colesterol) y latosterol (un 51% total y un 19% en el cociente latosterol/colesterol) a

los familiares normolipémicos. No se observaron diferencias en este caso en los marcadores de absorción del colesterol entre los grupos. Se halló correlación entre los niveles aumentados de lanosterol con los de apo B, triglicéridos y cLDL (16). Más recientemente, en 2018, un estudio español evaluando 100 pacientes con HFC corroboraba ambos hallazgos. Los sujetos con HFC en este estudio mostraban significativamente menor absorción de colesterol (niveles inferiores de colestanol y sitosterol), mayor síntesis de colesterol (niveles mayores de sitostanol, desmosterol y lanosterol) y concentraciones mayores de 27-hidroxicolesterol respecto a los sujetos controles, incluso tras ajuste por el IMC. El aumento en el IMC produjo una reducción en la absorción del colesterol sin modificarse su síntesis en las personas con HFC (34). Por tanto, los datos sugieren que mecanismos tanto relacionados con la absorción como con la síntesis del colesterol pueden estar afectados en la hiperlipemia familiar combinada. Por otro lado, se han publicado en la HFC asociaciones a diversos genes con un papel en el metabolismo del colesterol como el gen de la PCSK9 (cuya proteína se une al receptor de la LDL y promueve su degradación en los lisosomas), el de la apo B o el del propio receptor hepático de las LDLs (LDLR) con potencial papel en el origen de la hipercolesterolemia (11).

En nuestro estudio, el cLDL se correlacionó positivamente con el tamaño de las LDLs, en concordancia con el hallazgo de más partículas de LDL grandes en situaciones con elevada concentración de la lipoproteína como se ha descrito en la hipercolesterolemia familiar (432).

El hallazgo de niveles elevados de **Lp (a)** en la HFC no ha sido uniforme en los distintos estudios publicados y posiblemente esto se deba a diferencias fenotípicas en las poblaciones analizadas. En nuestra cohorte las concentraciones de esta lipoproteína fueron mayores a las de los controles en los pacientes con fenotipo hipercolesterolémico o mixto y en aquellos con fenotipo A de la LDL y en la cohorte total las diferencias estaban en el límite de la significación estadística en concordancia con la hipercolesterolemia como fenotipo poblacional predominante.

Las concentraciones de **cHDL** eran significativamente menores (en un 32%) en el conjunto de sujetos con HFC a las de los controles sanos. La reducción del cHDL estaba presente en los subgrupos de pacientes, independientemente de su fenotipo de las LDLs o de su fenotipo lipídico. Sin embargo, el cHDL era significativamente menor en los pacientes hipertrigliceridémicos y en los de fenotipo mixto al de los hipercolesterolémicos.

La asociación inversa entre parámetros del fenotipo hipertrigliceridémico y cHDL probablemente se explica por un lado por el efecto directo del exceso de triglicéridos (TG) en la composición y concentración de esta lipoproteína como veremos más adelante y también a través de la frecuente vinculación de ambos a la obesidad e insulinoresistencia (433). Los NEFAS se correlacionaron



negativamente con el cHDL y si bien, ni triglicéridos ni las VLDLs lo hicieron con el cHDL sí se correlacionaron negativamente (o tendieron a ello) con parámetros ligados directamente a los niveles de las HDLs como era la apo A-I. En los estados hipertriglicéridémicos con insulinoresistencia hay una mayor transferencia de triglicéridos desde el pool aumentado de lipoproteínas ricas en TG que contienen apo B hacia las HDLs en un intercambio por ésteres de colesterol (EC) desde éstas a las primeras. La CETP media esta transferencia entre las lipoproteínas ricas en triglicéridos y las HDLs (particularmente la HDL2a) (434), (435). Se forman así partículas de HDL enriquecidas en TG y deplecionadas de EC relativamente que contribuyen al descenso de las concentraciones de colesterol HDL plasmático por su mayor catabolismo. Su mayor eliminación plasmática respecto a las formas no enriquecidas en TG se produce a través de los siguientes mecanismos propuestos. Las HDL ricas en TG y deplecionadas de EC poseen menos estabilidad termodinámica y tienen su apo A-I en una forma más débilmente unida. Estas formas de HDL son más rápidamente lipolizadas por la lipasa hepática, lo cual reduce el tamaño de la lipoproteína y da lugar a una apo A-I libre o a partículas pre  $\beta$ 1 pobres en lípidos (que solo contienen apo A-I junto a una pequeña cantidad de lípidos) siendo escindidas o liberadas de las partículas. (436). La obesidad aumenta la lipasa hepática (HL) (437) la cual hidroliza las HDL ricas en TG y libera apo A-I pobre en lípidos conduciendo a la formación de partículas de HDL remanentes (438). Además, las partículas de HDL remanentes que han sido reducidas de tamaño pueden por sí mismas ser más rápidamente eliminadas de la circulación a nivel renal. Estos mecanismos disminuyen las concentraciones plasmáticas de apo A-I y de la HDL a través del aumento de su tasa catabólica fraccional y de su eliminación de la circulación (436). Así en los estados de hipertriglicéridemia se ha hallado un aumento de la tasa catabólica fraccionada de la apo A-I sin disminución en su producción (439), (440), (441), (442).

También se puede ver afectada la maduración de las HDLs. En los sujetos obesos insulinoresistentes hay una disminución de la estimulación normal de la actividad de la LPL mediada por insulina (443), (444). La lipólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos por la LPL da lugar a la formación de materiales de superficie redundantes, los cuales son transferidos a las partículas de HDL, influyendo en la maduración de la HDL en la circulación y en las concentraciones proteicas y lipídicas de las HDL plasmáticas (445), (446). La reducción en la actividad de la LPL podría reducir la maduración de las partículas de HDL como resultado de un cambio de los lípidos y las apolipoproteínas de la superficie de las lipoproteínas ricas en TG durante la lipólisis mediada por la LPL (447).

Los sujetos con HFC y fenotipo B de las LDLs tenían niveles menores de cHDL respecto a los del fenotipo A de estas partículas, siendo inferiores a los objetivos en los del fenotipo B y hallándose en objetivos los del fenotipo A. El cHDL se correlacionó positivamente con el tamaño de las LDLs en el conjunto de los pacientes. Esta relación parece fundamentada en la relación con la

hipertrigliceridemia pero también aparece en su ausencia. Así, en un estudio que analizaba la distribución por quintiles de las partículas de LDL según su tamaño se halló un incremento progresivo de la Apo A-I y de las HDLs que tenían solo apo A-I pero no apo A-II (Lp A-I) desde el primer quintil (aquel con LDL pequeñas) hasta el último quintil (que comprendía las LDLs más grandes). Dicha asociación era independiente de los niveles de triglicéridos. El colesterol HDL, la apo A-I y la Lp A-I, además de los triglicéridos, fueron determinantes del tamaño de las LDLs en el análisis multivariante (448). Además, las LDLs pequeñas y densas son un hallazgo frecuente propiciado en situaciones de hipertrigliceridemia y anteriormente ya hemos descrito como los niveles elevados de triglicéridos se relacionan inversamente con las concentraciones de HDLs. Las concentraciones bajas de HDL, la hipertrigliceridemia, y la actividad elevada de la lipasa hepática se asocian frecuentemente al fenotipo de LDLs pequeñas y densas (449), (450), (451). Este fenotipo se asocia a un aumento del doble en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, apo B plasmática más elevada y concentraciones reducidas de cHDL y Apo A-I (158).

En el gráfico 11 se muestran las alteraciones de los principales parámetros lipídicos en la HFC .

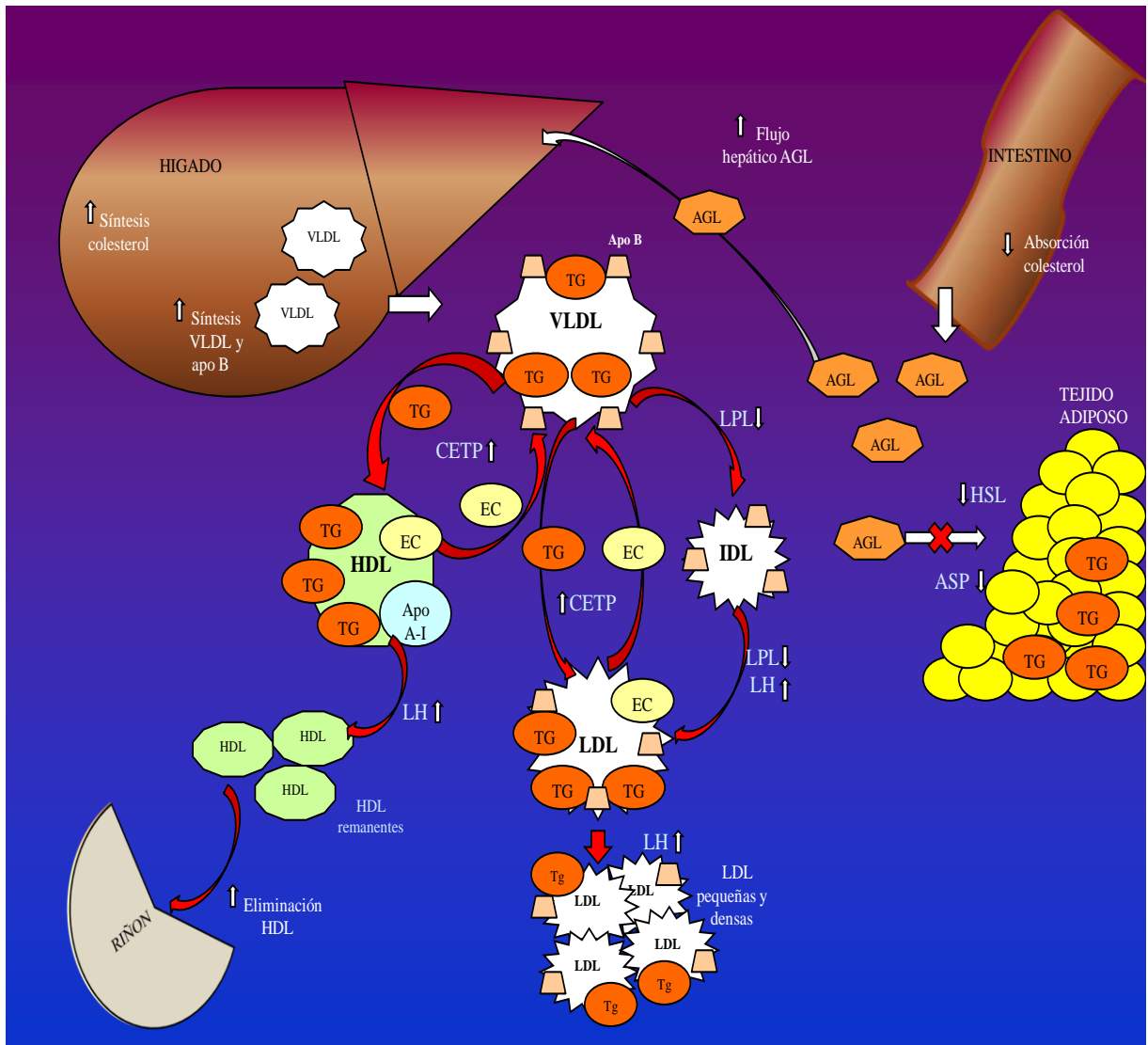


Gráfico 11. Alteración de los parámetros lipídicos principales en la hiperlipemia familiar combinada. En la enfermedad se halla un aumento de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres. El tejido adiposo es disfuncional y contribuye a través de un descenso de las actividades enzimáticas de HSL y ASP al incremento de los niveles plasmáticos de ácidos grasos. Esto produce un flujo elevado de los mismos hacia el hígado donde influyen en una mayor secreción de apo B y VLDL favoreciendo la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia. La abundancia de lipoproteínas ricas en triglicéridos en plasma facilita un intercambio con las HDL y con las LDL de triglicéridos a cambio de ésteres de colesterol. En este proceso intervienen modificaciones de las actividades enzimáticas con un aumento de la de la CETP y la LH y una disminución de la de la LPL. Como resultado aumentan las concentraciones de LDL pequeñas y densas y se forman HDL remanentes que son catabolizadas más fácilmente contribuyendo a la reducción de las HDL. LPL: lipoprotein lipasa. LH: lipasa hepática. CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol. ASP: proteína estimuladora de la acilación. HSL: lipasa hormonosensible. AGL: ácidos grasos libres.

## **2. ESTADO INFLAMATORIO EN LA HFC**

La HFC se asocia, como ya hemos comentado, a un elevado riesgo cardiovascular mediado por su predisposición a la aterosclerosis. En los últimos años cada vez más hallazgos han subrayado la importancia del proceso inflamatorio subyacente en la aterosclerosis. Por dicho motivo, en nuestro estudio estudiamos la posible vinculación de esta dislipemia genética con fenómenos inflamatorios evaluando reconocidos marcadores de dicho proceso.

La HFC se asociaba en nuestro estudio a un estado inflamatorio crónico de bajo grado caracterizado por niveles plasmáticos aumentados de la **PCR (proteína C reactiva)** en el conjunto de los pacientes, independientemente de su fenotipo de LDL, y en los de fenotipo hipercolesterolémico o mixto. La PCR es un reconocido marcador de inflamación pudiendo reflejar procesos aterogénicos así como el riesgo de eventos cardiovasculares. Puede ser sintetizada por los leucocitos y los adipocitos a pesar de ser originada fundamentalmente a nivel hepático.

Los niveles elevados de PCR se asociaban positivamente a los de cLDL y negativamente a los de cHDL, lo que corrobora su vinculación con la alteraciones del metabolismo lipídico en la línea de lo hallado en los pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigota, los cuales mostraban niveles mayores de hsPCR y citoquinas proinflamatorias como IL-6 e IL-8 a los de los individuos sanos (452) o de las concentraciones de PCR elevadas en sujetos con hipercolesterolemia poligénica o hipertrigliceridemia aislada (453). Los datos publicados sobre la interacción de la LDL o sus modificaciones con la PCR no son uniformes. Así, se ha descrito que la PCR no se une a la LDL en su forma nativa (454), (455), (456), pero ambas moléculas sí interactúan si bien la PCR o la LDL nativa está inmovilizada y agregada (457), (458), (459). Algunos investigadores también han demostrado a pH fisiológico la capacidad de unión de la PCR a la LDL oxidada *in vitro* (460), (456), (455) e incluso la unión *in vivo* en pacientes con diabetes mellitus y aterosclerosis o en animales de experimentación (461), (456), mientras otros autores no han replicado esta unión a pH fisiológico (454), (462) precisándose pH ácido para la unión. Además la PCR también se une al receptor de la LDL oxidada LOX-1 (463). La LDL oxidada y la LDL-5 altamente electronegativa plasmáticas de pacientes hipercolesterolémicos inducen la liberación de PCR por las células endoteliales aórticas humanas de un modo LOX-1 dependiente, mientras que la LDL nativa no tiene este efecto (464), (465). Las células endoteliales expuestas *in vitro* a LDL modificada o citoquinas proinflamatorias producen PCR (465), (466). En las células endoteliales, la LDL modificada regula positivamente la IL-6 (467) la cual a su vez induce la expresión de los receptores scavenger de los macrófagos implicados en la captación de la LDL modificada, promoviendo así la formación de células espumosas (468) y acentuando el proceso inflamatorio en la placa. La PCR también se puede sintetizar en las células de las placas ateroscleróticas, lo que viene apoyado por el

hallazgo de colocalización de PCR y LDL oxidada en los macrófagos de las placas de ateroma resecadas en sujetos con angina estable o inestable y IAM (469). A nivel terapéutico, los datos de los ensayos clínicos indican que la mayor reducción en los eventos cardiovasculares en pacientes tratados con estatina se observa en aquellos que consiguen tanto una reducción de cLDL como de hs-CRP (470).

Como más adelante veremos, la hiperlipemia familiar combinada se asocia a fenómenos prooxidativos de las lipoproteínas y la evidencia científica demuestra que las formas de LDL modificadas oxidativamente ejercen una regulación positiva sobre la producción de IL-6, la cual a su vez es capaz de aumentar la síntesis de PCR. Aunque este efecto está bien documentado científicamente no se corroboró en nuestro estudio ya que, a diferencia de la PCR y de la LDL oxidada, las concentraciones plasmáticas de IL-6 no difirieron significativamente de las de las personas sin la dislipemia. Por tanto, parece que un efecto estimulador de la secreción de PCR por el endotelio producido por el aumento de las formas oxidadas de LDL puede tener un papel más significativo en este caso.

Además, los niveles de PCR se han correlacionado positivamente con la proporción de monocitos proinflamatorios y negativamente con la proporción de monocitos clásicos. El cociente de monocitos proinflamatorios respecto a monocitos clásicos se correlacionó positivamente con la PCR y con la ratio colesterol total/cHDL, negativamente con el cHDL y tendía a la correlación positiva con el cLDL (  $p < 0,05$ ). Estas relaciones se han evidenciado tanto en niños sanos como en aquellos con hipercolesterolemia familiar, si bien estos últimos tenían mayor proporción de monocitos proinflamatorio (471).

La relación inversa entre la PCR y cHDL podría estar relacionada con las conocidas propiedades antiinflamatorias de las HDLs aunque hay pocos datos específicos publicados sobre esta relación. (472),(473). Otro factor que puede ayudar a entender esta correlación son las evidencias de asociación de la PCR con la obesidad, en la cual el HDL suele estar reducido. Los adipocitos en un entorno inflamatorio pueden sintetizar PCR. En un estudio en población obesa sana, los individuos obesos con deterioro de la insulino sensibilidad tenían niveles significativamente mayores de PCR. El índice de insulinosensibilidad en estos sujetos se correlacionó significativamente de modo inverso con la PCR (474). Asimismo, los niveles de PCR se correlacionaron positivamente con el IMC en pacientes con trastorno bipolar (472).

En nuestro estudio evaluamos el perfil de algunas quimioquinas leucocitarias que participan en el proceso inflamatorio y en las fases iniciales de la aterosclerosis. La proteína-1 quimioatrayente de los monocitos (**MCP-1**) participa mediando el reclutamiento de macrófagos y monocitos hacia la

pared vascular y su posterior activación que provoca lesión en el endotelio. El factor estimulador de las colonias de granulocitos-macrófagos (**GM-CSF**) también contribuye en la génesis de los procesos inflamatorios y aterosclerótico. Actúa tanto sobre las células progenitoras mieloides regulando su proliferación y diferenciación como sobre los neutrófilos maduros, monocitos y eosinófilos incrementando su número y estimulando diversas de sus funciones como su adhesión, su producción de citoquinas o de anión superóxido.

En el presente estudio, los individuos con HFC mostraban niveles más elevados de las quimioquinas leucocitarias.

El MCP-1 estaba elevado en el conjunto de pacientes, independientemente de su fenotipo de LDL, y en aquellos con hipercolesterolemia y con fenotipo mixto. Se asociaba de modo positivo a la apo B y a la proporción de apo A-II en las HDLs y negativamente al cHDL y a la proporción de apo A-I en las HDLs, en este último caso en el límite de la significación estadística.

El GM-CSF se hallaba aumentado en todos los pacientes, sea cual fuese su fenotipo lipídico o el de sus LDLs. Se correlacionaba positivamente con la apo B, el colesterol total, el cLDL, las formas oxidadas de LDL y tendía a ello con colesterol no HDL.

Algunos estudios han reseñado el papel destacado que el colesterol LDL tiene en el inicio y la progresión del proceso aterosclerótico a través de la liberación de mediadores inflamatorios y proteínas con capacidad quimiotáctica. Hay datos publicados que evidencian una relación entre el colesterol y estas quimioquinas. Se han demostrado niveles de MCP-1 y de GM-CSF significativamente más elevados en sujetos hipertensos con hipercolesterolemia que en los hipertensos no hipercolesterolémicos y en los controles sanos. En los hipertensos hipercolesterolémicos los niveles del MCP-1 se correlacionaron significativamente de modo positivo con los del GM-CSF y ambos niveles también se correlacionaron positivamente con el cLDL (475). También se ha descrito un aumento de los niveles plasmáticos de MCP-1 en sujetos con diabetes tipo 2 respecto a los sujetos sanos. A su vez, los individuos con diabetes tipo 2 mostraban niveles significativamente más elevados de latosterol (marcador de síntesis de colesterol) y menores niveles de sitosterol y campesterol (marcadores de absorción del colesterol). El MCP-1 se correlacionó significativamente con el latosterol en la cohorte de pacientes tratados con estatina (476). Por otro lado, los estudios de tratamiento con estatinas han aportado datos indirectos de esta relación, mostrando disminución de los niveles de MCP-1 con dicha terapia, de modo independiente a su efecto hipolipemiante en pacientes con enfermedad cardiovascular sin diabetes (477). En un estudio con pacientes hiperlipémicos (colesterol total >200 mg/dl y cLDL > 135 mg/dl, con criterio adicional posible de TG > 200 mg/dl), en aquellos tratados con dieta baja en grasas los niveles de MCP-1 antes de la terapia eran significativamente mayores que en los controles y la terapia dietética los redujo significativamente. En aquellos hiperlipémicos sin

respuesta a dieta baja en grasas los niveles de MCP-1 eran significativamente más elevados que en los controles normolipémicos y el tratamiento con fenofibrato, atorvastatina y simvastatina redujo significativamente dichos niveles. El descenso de la liberación de MCP-1 se correlacionó positivamente con el descenso de los parámetros lipídicos (LDL, apo B, colesterol total) en los pacientes que recibieron terapia hipolipemiente (478). Otros estudios no han demostrado con la terapia con estatinas un descenso de los niveles elevados de MCP-1 en pacientes con enfermedad cardiovascular sin diabetes (476). Además, la aféresis de las LDLs ha mostrado ser capaz de reducir significativamente las concentraciones de GM-CSF en pacientes con dislipemias genéticas severas (hipercolesterolemia familiar homo o heterocigota o hiperLp(a) proteinemia) (479). Así mismo, las formas oxidadas de la LDL estimulan la liberación de citoquinas por los monocitos y macrófagos, entre ellos el MCP-1.

Hasta donde conocemos hay pocos datos disponibles de la relación entre el MCP-1 y la HDL. En un estudio en niños jóvenes sanos, tras ajustar por múltiples variables (edad, sexo, presión arterial sistólica, IMC, cLDL, cHDL, triglicéridos y HOMA) la asociación del MCP-1 con el cHDL fue negativa pero sin presentar significación estadística (480). Hay también datos de estudios in vitro que sugieren una regulación génica negativa de las formas oxidadas de HDL sobre la expresión de los genes de los macrófagos. La incubación de macrófagos derivados de monocitos con LDL oxidada durante 1 y 3 días produjo una regulación positiva del gen de GM-CSF1 más de 2 veces superior, mientras que la incubación con HDL oxidada produjo el efecto inverso dando lugar a una regulación negativa en ambos momentos estudiados. Esto sugiere un efecto inverso de la HDL oxidada respecto a la LDL oxidada en la expresión de genes de los macrófagos (481).

MCP-1 se relacionó positivamente con la HbA1c en concordancia con lo descrito en diabetes tipo 2 donde sus niveles se hallan elevados y muestran relación con las formas oxidadas de la LDL (482).

El tejido adiposo es metabólica y hormonalmente muy activo. De entre las adipokinas que produce, las dos más estudiadas son la leptina y la adiponectina. Se ha propuesto la asociación de la **leptina** con el riesgo arterial coronario a través de efectos como la disminución del NO a nivel endotelial, el aumento de la agregación plaquetar y de la proliferación del endotelio y del músculo liso vascular entre otros. Por su parte, la **adiponectina** ha evidenciado efectos protectores ante la aterosclerosis disminuyendo la producción de moléculas de adhesión vascular y la inflamación a nivel endotelial.

En el presente estudio, las concentraciones de adiponectina eran bajas en todos los pacientes con HFC, independientemente de su fenotipo lipídico o el de sus LDLs, y de modo más marcado en aquellos con hipertrigliceridemia o fenotipo B de LDL. Se asociaba negativamente a los rasgos de hipertrigliceridemia, al perímetro de cintura y a la insulinemia, y positivamente al cLDL. Los

niveles de leptina no variaban significativamente en el conjunto de los pacientes respecto a a los controles sin la dislipemia si bien tendían a ser superiores en aquellos con fenotipo A de las LDLs. Por tanto, en nuestros pacientes la adiponectina era significativamente menor entre aquellos sujetos con fenotipo de hipertrigliceridemia-insulinorresistencia.

La adiponectina participa en la regulación del metabolismo de las lipoproteínas y regula la actividad de la LPL (483),(484). El mecanismo de la activación de la LPL por la adiponectina parece estar asociado con la activación de los PPAR $\gamma$  (485). De este modo, niveles plasmáticos bajos de adiponectina, lo cual es frecuente en la insulinorresistencia, se asocian a una disminución de la activación de la LPL y, por tanto, a un aumento de las concentraciones de colesterol de las lipoproteínas remanentes (486)(484) y de VLDL apoB en relación principalmente con una disminución del catabolismo y retraso de la hidrólisis de estas lipoproteínas. Este efecto de la adiponectina es independiente tanto de la insulinorresistencia como del tamaño del compartimento de tejido adiposo (487). Por otro lado, se ha descrito que niveles plasmáticos bajos de adiponectina pueden conducir a un aumento de producción de VLDL, ya que producen una reducción de la oxidación de ácidos grasos libres musculares aumentando los niveles de ácidos grasos libres en plasma y de la grasa a nivel hepático promoviendo la síntesis de VLDL en ese órgano (488). En un estudio en población japonesa con diabetes tipo 2 o con síndrome metabólico, la adiponectina se relacionó negativamente con los triglicéridos, el cLDL, las LDL pequeñas y densas, el colesterol de las partículas remanentes (RLP-C), los triglicéridos de las partículas remanentes (RLP-TG), el RLP-TG/RLP-C y positivamente con la LPL en el análisis de regresión simple basal. Tanto en los sujetos sanos como en aquellos con DM tipo 2 o con síndrome metabólico, la LPL se correlacionó positivamente con la adiponectina plasmática y ambas estaban negativamente correlacionadas con el RLP-TG/RLP-C. Una mayor concentración de adiponectina reflejaba un menor tamaño significativo de las lipoproteínas remanentes (la forma metabolizada por la LPL), lo cual iba en paralelo a la concentración de LPL (489). Estos datos concordaban con lo publicado en otro estudio (490), donde se halló una relación inversa entre el nivel de adiponectina y el tamaño de la VLDL, medido por resonancia nuclear magnética. Un estudio en población adulta japonesa demostró que la interacción entre el HOMA-IR aumentado y la adiponectina de alto peso molecular (una forma activa de la molécula) sérica disminuida era un determinante significativo positivo y dependiente para el número acumulado de componentes del síndrome metabólico, además de para su asociación directa. Se evidenció una relación negativa de la adiponectina con los triglicéridos, el cLDL, el colesterol no HDL, el cociente colesterol total /cHDL, el cociente triglicéridos/cHDL y el cociente cLDL/cHDL, mientras se relacionó positivamente con el colesterol HDL en el análisis de regresión múltiple categorizado por sexo (491). Además, la adiponectina se correlacionó negativamente con el perímetro de cintura abdominal, reflejando la disminución de su producción en la grasa visceral por el incremento de la secreción de TNF $\alpha$  por el adipocito (492).



Una posible interpretación de los hallazgos respecto a la inflamación y el estado oxidativo en los pacientes en nuestro estudio se muestra en el gráfico 12.

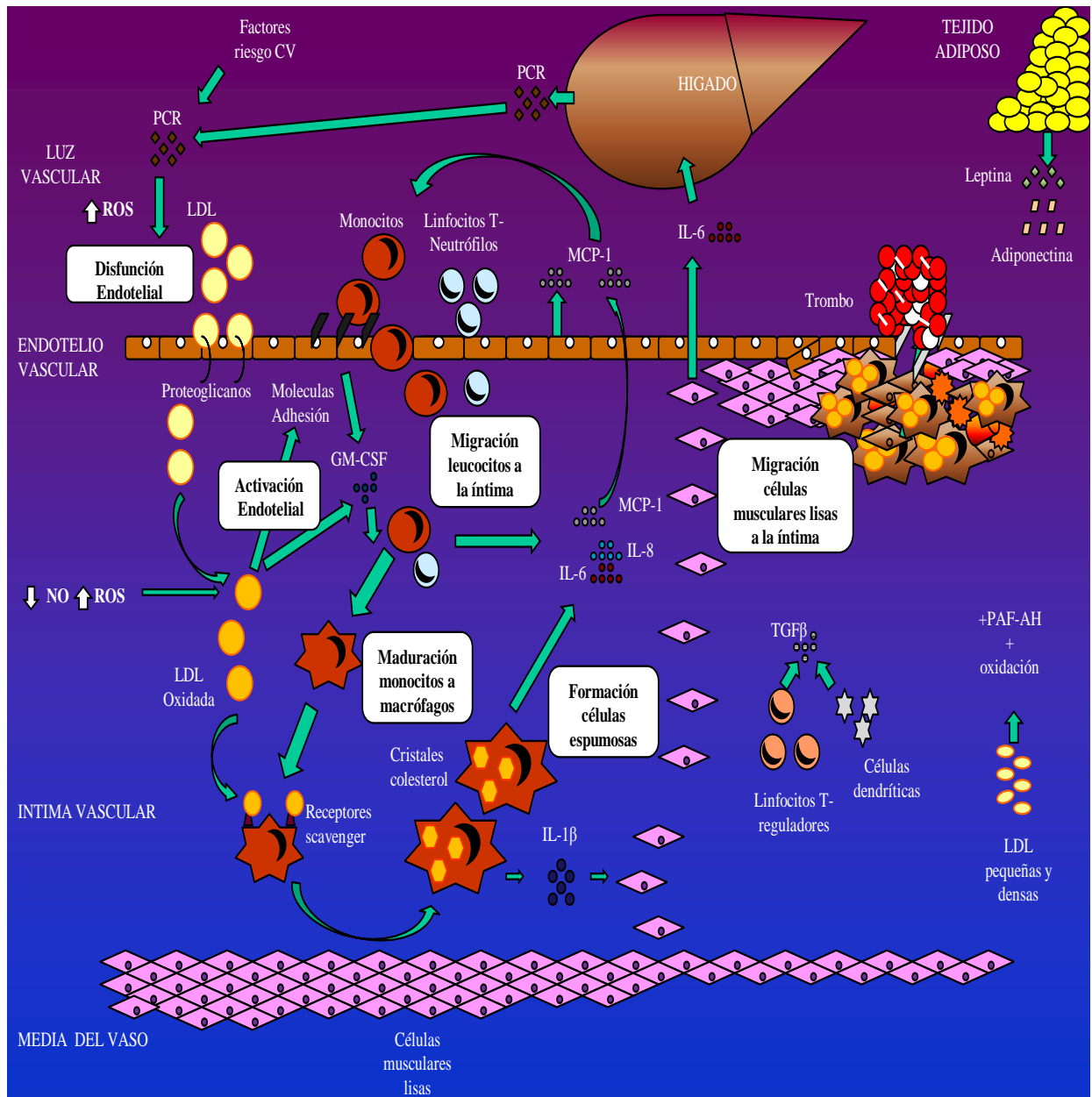


Gráfico 12. Interacción del proceso inflamatorio y la modificación oxidativa de las LDL en la aterosclerosis.

En base a los hallazgos de nuestro estudio y a los datos publicados en la literatura científica se puede hipotetizar la interacción de fenómenos oxidativos e inflamación en la HFC. En estos sujetos hay más proporción de LDL pequeña y densa la cual penetra con mayor facilidad en el espacio subendotelial. Allí sufre modificaciones oxidativas que aumentarían la síntesis de GM-CSF y además facilitarían la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio. Como resultado proliferarían los monocitos y tras su entrada en el subendotelio madurarían a macrófagos. La captación de LDL oxidada por los mismos daría lugar a células espumosas que aumentarían la secreción de MCP-1 atrayendo a más células al espacio subendotelial. Además el endotelio activado por la LDL oxidada incrementaría la secreción de MCP-1 y de PCR. Las formas de LDL pequeña y densa también presentan más PAF-AH. El tejido adiposo produciría menos adiponectina lo cual reduciría su papel protector del proceso aterosclerótico.

### **3. MODIFICACIONES DE LAS LDL**

El **tamaño de las LDLs** era inferior en los sujetos con HFC al de los individuos sin la dislipemia, en su conjunto, independientemente de su fenotipo de LDL, y especialmente en aquellos con hipertrigliceridemia o con fenotipo mixto. Se asociaba positivamente con el cLDL, el cHDL, la adiponectina, el contenido en colesterol de las HDLs y la proporción de apo A-I en las HDLs. Se asociaban negativamente con los triglicéridos, el contenido de triglicéridos en las HDLs, el cVLDL y el IMC, y tendía a ello con la LDL oxidada en las mujeres (p 0,088).

El predominio de las de las partículas de cLDL pequeñas y densas es una de las características más significativas de la HFC y, como ya hemos reseñado previamente, el tamaño y la densidad de la LDL viene determinado por la cuantía y la tipología del contenido lipídico de la partícula. Un menor tamaño de la lipoproteína refleja un mayor contenido en triglicéridos, habitualmente en respuesta a una hipertrigliceridemia plasmática producto de la remodelación de las VLDLs, y un menor contenido en ésteres de colesterol. La hiperapolipoproteinemia B en los sujetos con HFC y especialmente en el subgrupo con LDLs pequeñas y densas viene en relación con la estimación que este parámetro realiza no solo del número de partículas LDL sino también de las de las partículas de VLDL, IDL y quilomicrones. En este sentido, la presencia de concentraciones elevadas de VLDL y consecuentemente de triglicéridos en esta dislipemia familiar, bien por sobreproducción o por deficientes actividades enzimáticas, justifican los niveles más elevados de apoB asociado al fenotipo B de las LDLs, como han hallado algunos autores (158). Por otro lado, la excesiva producción de apoB en la enfermedad puede condicionar un aumento de la concentración de las LDLs.

La HFC también se asociaba a un mayor grado de modificaciones oxidativas de estas partículas, con concentraciones superiores de **LDL oxidada** en estos individuos mientras que la **LDL negativa** solo tendía a ser superior a la de los controles en los pacientes con fenotipo lipídico mixto.

En el presente estudio, la forma oxidada de la LDL estaba aumentada en los pacientes en su conjunto y en todos sus fenotipos lipídicos y de LDL, predominando en aquellos con fenotipo lipídico mixto. Se asociaba positivamente con el cLDL, el colesterol total y el colesterol no HDL. En las situaciones de hipercolesterolemia, una mayor disponibilidad de las partículas que transportan colesterol y de LDL en plasma expuestas al mayor estrés oxidativo existente favorece lógicamente que éstas sufran modificaciones oxidativas. En un estudio en miembros asintomáticos de familias con HFC, aquellos afectados por la enfermedad tenían niveles aumentados de LDL oxidada en plasma y en el análisis multivariante la LDL oxidada se asoció independientemente de modo positivo con los triglicéridos, con el LDL y con la apo B séricas. (493). Otras publicaciones

han confirmado la relación entre los niveles del colesterol o de la LDL y la LDL oxidada medida por anticuerpos (494),(495).

Aunque no se evidenciaron diferencias significativas en los niveles de LDL oxidada entre aquellos individuos con HFC y fenotipo B de las LDLs y los del fenotipo A, estos eran algo superiores en los primeros y el tamaño de las LDLs tendía a la correlación negativa en las mujeres con la LDL oxidada ( $p$  0,088). Ello concuerda con los estudios que asocian la LDL oxidada con el fenotipo hipertriglicéridémico y el predominio de las formas pequeñas y densas de las LDLs (496). Así en nuestro estudio la LDL oxidada tendía a correlacionarse positivamente con el VLDL y los triglicéridos. Las LDL pequeñas y densas son más susceptibles de sufrir modificaciones oxidativas (497) (498). Las formas pequeñas y densas de LDLs tienen mayor afinidad de unión a los proteoglicanos y mayor facilidad de penetrar en el espacio subendotelial, donde sufren más modificaciones oxidativas (499). Por otro lado, el mayor tiempo de persistencia plasmático de estas partículas las hace más proclives a sufrir modificaciones oxidativas. En un estudio finlandés en pacientes con sospecha de enfermedad arterial coronaria, los triglicéridos se correlacionaron positiva y significativamente con la LDL oxidada y negativamente con el tamaño de las LDLs (500). En la hiperlipemia familiar combinada se hallan niveles plasmáticos elevados de apo B y de LDL, se incrementa el paso de las LDLs al espacio subendotelial y, en el contexto de un estrés oxidativo aumentado, son modificadas oxidativamente. En un estudio en miembros asintomáticos de familias con hiperlipemia familiar combinada, el tamaño de las LDLs se correlacionó negativamente de modo significativo con la LDL oxidada en el análisis univariante. Los miembros afectados con la HFC tenían significativamente menor tamaño de las LDLs y más LDL oxidada que los familiares no afectados por la dislipemia genética (493). En otro estudio en pacientes con dislipemia (50 de ellos hipercolesterolémicos, 50 hipertriglicéridémicos y 50 con dislipemia mixta), los niveles de LDL pequeñas y densas estaban positivamente correlacionados con la LDL oxidada. Solo los niveles de las LDL pequeñas y densas fueron un predictor independiente de los niveles de LDL oxidada en el análisis de regresión múltiple ajustado (501).

La LDL electronegativa es una forma modificada de la LDL circulante en plasma con una alta carga negativa que constituye sobre un 3-5% del total de LDL en los pacientes normolipémicos. En el presente estudio, la LDL electronegativa tendía a ser más elevada en los sujetos con la dislipemia y fenotipo lipídico mixto que en los controles sanos, asociándose positivamente al colesterol total, al colesterol no HDL, a la Lp (a) y tendiendo a ello con el cLDL. El aumento en la producción de LDL negativa está estrechamente relacionado con el incremento en los niveles de LDL oxidada y de LDL pequeña y densa (502), pero existe cierta heterogeneidad en las LDL negativas y se ha implicado en su génesis las formas pequeñas y densas de LDL en las personas

normocolesterolémicas, las formas grandes de LDL en la hipercolesterolemia familiar y ambos subtipos de LDL en los individuos hipertriglicéridémicos. Así, se ha hallado que la LDL negativa de individuos normocolesterolémicos era predominante en la subfracción densa (fenotipo B), mientras que la mayoría de la LDL negativa de los pacientes con hipercolesterolemia familiar se hallaba presente en las subclases de LDL ligeras (fenotipo A) y lo atribuían posiblemente a diferencias en el contenido de triglicéridos de las subfracciones (197). De hecho, se ha apuntado que el enriquecimiento en NEFAS de las partículas de LDL aumenta su electronegatividad. (503). Otras publicaciones, por contra, describen una distribución bimodal, en la cual la LDL negativa estaba presente tanto en las partículas más densas como en las más ligeras en población normolipémica (504).

La LDL oxidada se correlacionó positivamente en nuestros pacientes con el GM-CSF, reflejando la inducción que ejerce la LDL oxidada sobre la producción de esta quimioquina por el macrófago (505), la cual actuaría de modo autocrino o paracrino induciendo la proliferación de estas células.

#### **4. CARACTERISTICAS DE LAS HDL EN LA HFC**

Los pacientes con hiperlipemia familiar combinada presentan además reducción de las concentraciones plasmáticas de cHDL, alteraciones de su proteoma y lipidoma, lo que afecta sus propiedades antiaterogénicas.

##### *- Proteoma de las HDLs*

En este estudio, la **proporción de apo A-II en las HDLs (HDL A-II)** estaba aumentada en el conjunto de pacientes con HFC, independientemente de su fenotipo lipídico y de LDL. La **proporción de apo A-I en las HDLs (HDL A-I)** estaba disminuida en la cohorte total, en aquellos con fenotipo hipertrigliceridémico o mixto y en aquellos con fenotipo B de LDL. La proporción de apo A-I en las HDLs (HDL A-I) se asociaba negativamente con los rasgos del fenotipo hipertrigliceridémico y positivamente con el cHDL y la adiponectina, mientras que la proporción de apo A-II en las HDLs (HDL A-II) se asociaba negativamente con el cHDL.

Acorde con estos datos, los niveles plasmáticos de **apo A-II** se hallaban significativamente elevados en el conjunto de los pacientes con HFC, con independencia de su fenotipo lipídico, y en aquellos con fenotipo A de LDLs tendiendo a ello en los del fenotipo B de las mismas (  $p < 0,052$ ). Los niveles de **apo A-I** eran menores en aquellos con hipertrigliceridemia y con fenotipo B de las LDLs.

Los resultados en nuestro estudio revelan mayores concentraciones plasmáticas totales de apo A-II así como un incremento de la proporción que representa respecto a la masa total de las partículas de HDL. Este hallazgo puede implicar bien un aumento del contenido en esta lipoproteína por partícula de HDL, bien un incremento en el número de partículas de HDLs que tienen apo A-II (Lp A-I: A-II) o ambas.

Los sujetos con HFC e hipertrigliceridemia o fenotipo B de las LDLs tenían menores concentraciones plasmáticas totales de apo A-I y una menor proporción del contenido de esta apolipoproteína en la masa total de partícula de HDL.

Los datos sobre la distribución de la apo A-I entre las HDLs que contienen solo apo A-I y no apo A-II (Lp A-I) y aquellas que contienen ambas apolipoproteínas (Lp A-I:A-II) no son uniformes. Se tiende a considerar que hay una distribución similar de la apo A-I entre ambas subpoblaciones de HDLs (238) así bien algunos autores no concuerdan con esta afirmación (506). Sin embargo, prácticamente toda la apo A-II se halla en las Lp A-I/A-II (238),(506).

Las diferentes técnicas que se emplean para determinar las subfracciones de las HDLs según su composición y propiedades han dado lugar a varias clasificaciones de las mismas y no siempre es fácil la correspondencia de las subclases identificadas por los diversos métodos. Las Lp A-I

incluirían las partículas  $\alpha$ -1 (HDL 2b, muy grandes),  $\alpha$ -4 (HDL 3b, pequeñas) y pre $\beta$ -1 (HDL3c, muy pequeñas), mientras que las Lp A-I: A-II incluirían las  $\alpha$ -2 (HDL 2a, grandes) y las  $\alpha$ -3 (HDL 3a, medianas) (507),(508). A medida que disminuye el tamaño de las HDLs va disminuyendo su proporción de lípidos (del 65% en las HDL2b al 35% en las HDL3c) y va aumentando su proporción de contenido proteico (del 35% de las HDL2b al 65% en las HDL3c) (238). La proporción relativa de Lp A-I es mayor en las HDL 2 y la de las Lp A-I-II superior en las HDL3 (509).

En nuestro estudio las concentraciones de **HDLs** eran menores en todos los pacientes, independientemente de su fenotipo lipídico o de LDLs, si bien eran inferiores en los de fenotipo B de LDL así como en los hipertriglicéridémicos y en los de fenotipo mixto.

Las concentraciones de HDLs van muy ligadas a los niveles de apo A-I como ya hemos explicado anteriormente. En nuestros pacientes el cHDL se correlacionó positivamente con la apo A-I y en menor grado con la apo A-II. Se ha comprobado que el incremento progresivo de las concentraciones plasmáticas de apo A-I produce un aumento de los niveles de todas las subpoblaciones de HDL, siendo mucho más marcado en las formas grandes (HDL2b) que en las pequeñas (pre $\beta$ 1) (510).

La apolipoproteína A-II es una de las apoproteínas principales de las HDLs, comprendiendo un 15-20% del contenido proteico de las mismas, por lo que resultaría lógica su asociación positiva con estas lipoproteínas. Sin embargo, los datos que la relacionan con las concentraciones de HDL son aparentemente discordantes. Los estudios in vitro han mostrado que la apo A-II puede desplazar a la apo A-I de la HDL, probablemente debido a la diferencia en la afinidad de estas apolipoproteínas por la superficie de la HDL (511). Los estudios con apo A-II humana en animales transgénicos dan una reducción del cHDL y del tamaño de las partículas (512),(513),(514),(515). Los estudios en humanos tampoco han sido siempre concordantes vinculando la apo A-II a un aumento del HDL (516) sin corroborarse en otros estudios (517).

También hemos detallado con anterioridad la relación inversa existente entre la hipertriglicéridemia y los niveles plasmáticos de apo A-I y de HDL. La hipertriglicéridemia y los rasgos asociados se relacionaron negativamente con la apo A-I y positivamente con la apo A-II en nuestro estudio. En un estudio en población asiática sin medicación hipolipemiente, el incremento progresivo de los niveles de apo A-I se acompañaba paralelamente de un significativo descenso de los de triglicéridos (TG) y un aumento de los de HDL en plasma, afectando a todas las subfracciones de las HDLs pero de modo más marcado a las subfracciones de HDL que habitualmente tienen mayor contenido en Apo A-I (las HDL2b grandes) en relación a las que poseen menor contenido en la apolipoproteína (HDLs pre $\beta$ 1 (que corresponderían a las HDL 3c)) (510). Los niveles más altos

de apo A-I correspondían a sujetos con altas concentraciones de cHDL y niveles más bajos de triglicéridos. El incremento de las HDL2 en estos sujetos con más apo A-I puede derivarse de la modulación enzimática en ellos ya que el cHDL elevado incrementa la actividad LCAT (que promueve la conversión de pre $\beta$ 1-HDL y HDL3 a HDL2) y disminuye la de CETP (518) y la disminución de triglicéridos aumenta la actividad de LCAT y la de LPL (la cual hidroliza los TGs de los quilomicrones y las VLDLs, liberando TG, colesterol total, fosfolípidos, apo A-I, y apoCs y la unión subsecuente de estos productos a las HDL3 da lugar a la formación de HDL2) a la vez que reduce la actividad de la lipasa hepática (enzima que promueve la conversión de HDL2 a HDL3 (y pre $\beta$ 1-HDL) y así, el exceso de fosfolípidos y apo A-I de la superficie son disociados de la HDL2) (519),(518),(520). En las situaciones donde aumenta el contenido en triglicéridos de las HDLs, la subpoblación principal de las mismas es la HDL3 (521), aumenta las proporciones de HDL pequeñas (pre $\beta$ 1-HDL y HDL3a) y disminuyen las formas grandes de la lipoproteína (HDL 2a y 2b) (522). Este hecho se produce de modo proporcional al incremento de las concentraciones de triglicéridos (523). Por tanto, la hipertrigliceridemia da lugar a una reducción de los niveles plasmáticos de HDLs y de apo A-I y presumiblemente, según lo publicado por otros autores, en mayor grado de las HDL grandes (HDL2b).

Sin embargo, en nuestro estudio, los pacientes hipercolesterolémicos y aquellos con fenotipo A de LDL también tenían menos HDL que los controles pero en ellos ni las concentraciones totales de apo A-I ni la proporción de esta apolipoproteína en las HDLs eran diferentes a las de aquellos sin la dislipemia, aunque sí eran mayores su contenido proporcional de apo A-II en las HDLs y sus concentraciones plasmáticas de esta apolipoproteína. Una posible explicación a estos hallazgos es un fenómeno de redistribución de la apo A-I entre las subpoblaciones de HDLs, de modo similar al descrito en personas con cardiopatía isquémica y sin medicación hipolipemiente los cuales presentan en relación a los controles sanos apareados por sexo y de modo significativo niveles de apo A-I menores en las HDLs muy grandes  $\alpha$ -1 y mayores en las HDLs pre $\beta$ -1 muy pequeñas (524) (525),(526),(527),(528). También en la hipercolesterolemia, en la hipertrigliceridemia y en la hiperlipemia mixta se ha descrito una disminución de los contenidos relativos de apoA-I de la HDL2b y HDL2a y un aumento de los mismos en la pre- $\beta$ 1, pre- $\beta$ 2, HDL3a, HDL3b y HDL3c (529)(530). Este hecho se ha hallado incluso en sujetos con concentraciones de LDL elevadas y cHDL normal. En sujetos hipercolesterolémicos, los niveles de colesterol total y de cLDL se correlacionaron positivamente de modo significativo con las HDL pequeñas pre $\beta$ 1, y negativamente de modo significativo con las HDL grandes HDL2b, tras ajuste por edad, sexo, peso e IMC (531). Esta hipotética posibilidad justificaría la ausencia de diferencias en los niveles de Apo A-I en los pacientes hipercolesterolémicos respecto a los controles en nuestro estudio, pese a menores concentraciones de HDL.

Un dato constante hallado en todos nuestros pacientes fue un incremento de las concentraciones de apo A-II y de la proporción de apo A-II en las partículas de HDL. La apo A-II se correlacionó positivamente con los NEFAS. Hay creciente evidencia de un papel de la apo A-II en la modulación del metabolismo de los TG y los ácidos grasos libres según los datos revelados en estudios animales, celulares y humanos. El mecanismo subyacente parece estar relacionado tanto con un aumento de la síntesis de VLDL como a una disminución de su catabolismo. Los estudios en animales transgénicos han mostrado que la sobreexpresión de apo A-II humana produce actividades de LPL y de lipasa hepática reducidas (514) que conducen a una disminución del catabolismo de las VLDLs. El acúmulo de la apo A-II en la superficie de la partícula de VLDL puede inhibir la LPL y así la hidrólisis de los triglicéridos. Esto produce un aumento de los niveles de triglicéridos y de VLDLs (514),(532) y los de ácidos grasos libres (533). También se produce un aumento de la producción hepática de VLDLs y una reducción de la oxidación de los ácidos grasos libres (534). Estos hallazgos se han replicado en estudios genéticos en humanos sobre algunos polimorfismos de la apo A-II (535),(536). En humanos el gen de la apo A-II está asociado con un gen que controla los niveles de ácidos grasos libres (533) y la apo A-II se correlaciona con los niveles plasmáticos de triglicéridos, de VLDLs y ácidos grasos libres, a través del aumento de la lipogénesis hepática, de una reducción relativa en la actividad LPL y una disminución de la eliminación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (537), (517).

Además el incremento de la proporción de apo A-II en la masa total de HDLs sugiere un enriquecimiento de las partículas con esta apolipoproteína e hipotéticamente podría también corresponder a un incremento del número de partículas de Lp A-I: A-II. La hipertrigliceridemia y las alteraciones de las actividades enzimáticas a las que se asocia (LPL, LCAT, lipasa hepática, CETP) favorecen un aumento de las proporciones de HDL pequeñas (pre $\beta$ 1-HDL y HDL3a) y una disminución de las formas grandes (HDL 2a y 2b) (522). Se ha descrito, tanto en sujetos hipercolesterolémicos como en aquellos con dislipemia mixta, una significativa modificación subpoblacional de las HDLs con incremento de las HDL pequeñas (pre $\beta$ 1 o HDL3c, HDL3b y HDL3a) y reducción de las HDLs grandes (HDL2a y HDL2b) respecto a los individuos normolipémicos. (538). Esta distribución puede estar influida por un aumento de la actividad de CETP y un descenso de la de LCAT asociadas con los niveles elevados de colesterol total.

Así, en su conjunto, nuestros hallazgos evidencian un aumento de la masa de apo A-II en los pacientes con HFC y en aquellos con fenotipo hipertrigliceridémico o con fenotipo B de LDL una disminución de la masa de apo A-I. Este hallazgo sugiere un hipotético descenso de los niveles plasmáticos de Lp A-I y un aumento de las Lp A-I:A-II, probablemente en concordancia con los descensos de las HDL2a y los aumentos de las HDL3 pequeñas descritos en otras dislipemias. En los pacientes hipercolesterolémicos y aquellos con fenotipo A de LDL una posible explicación para



su menor HDL con incrementos de la apo A-II y sin cambios ni en las concentraciones ni en la proporción media de apo A-I en la partícula sería un fenómeno de redistribución de la apo A-I entre las partículas.

Por lo que respecta a la repercusión sobre el proceso inflamatorio y las adipoquinas, la adiponectina en nuestro estudio se relacionó positivamente con la apo A-I y tendía a hacerlo negativamente con la apo A-II. El MCP-1 se correlacionó positivamente con la proporción de apo A-II en las HDLs y tendía a hacerlo negativamente con la proporción de apo A-I en las HDLs (p 0,057). Estos datos subrayan en el primer caso la relación directa positiva de la apo A-I, habitual determinante en mayor grado de las HDL más grandes, con la adiponectina como se ha visto en pacientes con diabetes (539) y en segundo lugar, la capacidad de supresión de la producción de ésta y otras citoquinas y quimioquinas en las células endoteliales evidenciadas en compuestos recombinantes de apo A-I y fosfolípidos humanos (540).

- Lipidoma de las HDLs

En relación a la composición lipídica, en conjunto, en la hiperlipemia familiar combinada se producían cambios en el lipidoma de las HDLs que aumentaban su **contenido de triglicéridos** y disminuían el **contenido de colesterol** en estas lipoproteínas. Estos cambios son característicos de situaciones que cursan con hipertrigliceridemia y resistencia a la insulina en las que se producen alteraciones de la actividad de la LPL, de la lipasa hepática (LH) y/o de la actividad de la LCAT. Estas modificaciones de la actividad enzimática originan en la HDL un enriquecimiento en su contenido en triglicéridos (TG) y una deplección del contenido en ésteres de colesterol (EC), en relación a alteraciones que favorecen un intercambio de los primeros a cambio de los segundos entre las abundantes lipoproteínas ricas en triglicéridos y las HDLs.

Asimismo, el **contenido de fosfolípidos** estaba reducido, especialmente en los pacientes con fenotipo hipercolesterolémico y fenotipo A de LDL, y se relacionaba positivamente con las VLDLs sugiriendo un cociente disminuido de lípidos de superficie respecto a los del núcleo de la partícula. El enriquecimiento anormal en lípidos en el núcleo a expensas de los lípidos de superficie puede influir en la rigidez y fluibilidad de la superficie de la partícula. El **contenido de NEFAS** en las HDLs era menor en los sujetos con HFC y fenotipo hipercolesterolémico.

El menor contenido de colesterol y el mayor contenido en triglicéridos de las HDLs se asociaban en mayor grado a un menor tamaño de las LDLs y a un fenotipo B de las mismas que al fenotipo A. Los pacientes hipertrigliceridémicos mostraban un contenido de colesterol disminuido y el mayor incremento del contenido de triglicéridos en las HDLs, pese a que este último se evidenciaba en

todos los fenotipos lipídicos. En los estudios genéticos en sujetos con hiperlipemia familiar combinada se han descrito afectaciones de genes que participan activamente en la remodelación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos como el de la lipoproteinlipasa, el de la lipasa hepática, el de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) o el de lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT) entre otros (11). Aparte del característico aumento en su síntesis, se han publicado hallazgos que revelan un menor catabolismo de las VLDLs en la enfermedad mediado por alteraciones en la actividad de la lipoproteinlipasa (25), LCAT (26) y/o lipasa hepática (27). La obesidad abdominal e insulinoresistencia se asocian con frecuencia a la HFC y dan lugar a un aumento de ácidos grasos libres en plasma y de los niveles de apo C-III que reducen la actividad de la LPL contribuyendo a la reducción de la eliminación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. En este contexto se favorece un intercambio mediado por la CETP entre las abundantes lipoproteínas ricas en triglicéridos y las HDLs con un trasvase de triglicéridos de las primeras hacia las segundas y uno de ésteres de colesterol en sentido inverso. Las HDLs resultantes están enriquecidas en triglicéridos y deplecionadas en ésteres de colesterol y son más proclives a su eliminación del plasma. El cociente EC/TG representa un factor crucial para determinar la estabilidad y el tiempo de permanencia en plasma de la partícula de HDL; siendo menos estables las HDL que poseen cocientes de EC/TG disminuidos. (541), (542), (543), (436). En nuestro estudio el cHDL se correlacionó positivamente con su contenido en colesterol (HDL-Col) y negativamente con su contenido en triglicéridos (HDL-Tg) y en NEFAS (HDL-NEFA).

Estos cambios en el lipidoma de las HDLs se relacionaron con el perfil de biomarcadores inflamatorios. El contenido en NEFAS de las HDLs se correlacionó positivamente con la IL-8. En relación a esto se ha evidenciado una asociación de la hipertrigliceridemia con niveles más altos de IL-8 (544). Además, la adiponectina se correlacionó positivamente con el contenido de colesterol en las HDLs y negativamente con su contenido en triglicéridos y en NEFAS, lo cual parece mediado por su efecto inductor de la activación de la LPL ya mencionado con anterioridad y su asociación inversa a la actividad de la lipasa hepática en plasma (545).

#### - Actividad enzimática asociada a las HDLs

La composición de las HDLs, especialmente el componente proteico y las actividades de diversas enzimas, tiene un papel decisivo en su capacidad antioxidante de las LDLs.

La Apo A-I es el componente principal de la actividad antioxidativa de la HDL y puede prevenir la oxidación de la LDL, retrasarla o ambas cosas, facilitando la eliminación de los fosfolípidos oxidados de la LDL, de las células de las paredes arteriales o de ambas. También tiene funciones

antioxidantes quelando iones metales de transición como el  $\text{Cu}^{2+}$  ó el  $\text{Fe}^{2+}$  (546). Esta apolipoproteína es clave para la estructura de la HDL y el mantenimiento del entorno lipídico en el cual los enzimas como la PON1 y la LCAT pueden operar, siendo un cofactor esencial para la activación de ambos (547). También crea un entorno seguro para la liberación de lisolípidos, como la lisofosfatidilcolina en el caso de la LCAT y su subsecuente transferencia hacia el hígado. La actividad antioxidativa de la apo A-I se produce mediante la reducción de los hidroperóxidos de lípidos (LOHH) a hidróxidos de lípidos (LOH) redox-inactivos, mediante la eliminación de ROS y la activación de PON-1. La apo A-I sin lípidos es capaz de eliminar moléculas de LOOH de las LDLs (548). Las rHDLs (HDL recombinantes) que contienen solo apo A-I purificada y fosfolípidos muestran una capacidad similar para inhibir la oxidación de la LDL que las HDL3b y 3c pequeñas y densas normolipémicas nativas (549).

A la apo A-II también se le han atribuido propiedades antioxidativas dependientes del estado redox de sus residuos de metionina (550), participando en la reducción de los hidroperóxidos de lípidos (LOHH) a hidróxidos de lípidos (LOH) redox inactivos (551).

Una parte importante de las propiedades antioxidantes de la HDL se han relacionado con la actividad de los enzimas PON-1 y PAF-AH.

La **PON-1** hidroliza los fosfolípidos oxidados de cadena corta y tiene una actividad más débil contra los hidroperóxidos de lípidos (LOHH) (552) (553) siendo primordial en la capacidad antioxidativa de la HDL (554),(555). A su vez, la HDL facilita la secreción de PON-1 por el hígado, estabiliza el enzima (556) y proporciona el entorno hidrofóbico que es necesario para la función de la PON1 (557). El enzima está estrechamente asociado con la apolipoproteína A-I en la HDL y tiene la mayor actividad en el hígado y en la sangre (558). En el presente estudio, la actividad PON-1 no difería entre los pacientes con HFC y los controles, pero tendía a ser menor en los pacientes con hipertrigliceridemia.

La **PAF-AH** es muy activa contra los hidroperóxidos de lípidos (LOOH) y también hidroliza los fosfolípidos oxidados de cadena corta (559). Todos los pacientes, independientemente de su fenotipo de LDL y de su fenotipo lipídico, mostraban una actividad PAF-AH total y una actividad PAF-AH en las HDLs aumentada, pero la proporción de las PAF-AH en las HDLs era menor en los pacientes con fenotipo lipídico mixto. La acción de la PAF-AH en los hidroperóxidos de fosfolípidos en las LDLs es proaterogénica liberando moléculas reactivas en las proximidades de las partículas (560). Las actividades de la PAF-AH asociada a la HDL y de la no asociada a la HDL se correlacionan estrechamente con las concentraciones de sus respectivas partículas en los individuos sanos. Un estudio japonés mostró que la concentración plasmática total de PAF-AH medida por ELISA está fuertemente correlacionada con la actividad PAF-AH total, mientras que la concentración plasmática de PAF-AH asociada a la HDL medida tras precipitación de las

lipoproteínas que contienen apo B se correlacionaba fuertemente de modo positivo con la actividad PAF-AH asociada a las HDLs. En los individuos sin dislipemia, la masa de PAF-AH no asociada a las HDLs se correlacionó positivamente con el cLDL y la apo B, mientras que la de la PAF-AH asociada a la HDL se correlacionó positivamente con las concentraciones de cHDL y de apo A-I. La distribución de la masa de PAF-AH entre las HDLs y las LDLs es determinada en parte por las concentraciones de dichas lipoproteínas y en parte por la masa de enzima por partícula de lipoproteína. En los pacientes hiperlipémicos la concentración de HDL asociada a la PAF-AH era mucho mayor a la de los sujetos sanos y las concentraciones de PAF-AH asociadas a las HDLs y las no asociadas a las HDLs se correlacionaron positivamente entre sí. Esta mayor concentración de PAF-AH en las HDLs estaba aparentemente en relación a una mayor masa de enzima por mol de apo A-I (561). Se han publicado estudios que demuestran que la actividad PAF-AH plasmática es más elevada en las hipercolesterolemias o hiperlipemias tipo IIa o IIb (562) así como en la hipercolesterolemia familiar (563). En este contexto se entiende la mayor actividad PAF-AH total y PAF-AH asociada a las HDLs en nuestros pacientes con hiperlipemia familiar combinada, ya que la mayoría de presentaban hipercolesterolemia. Los parámetros que favorecen una mayor concentración de HDLs (como la apo A-I) se asociaron negativamente con la actividad PAF-AH total, mientras que los vinculados a menores niveles de las HDLs (como la proporción de apo A-II en las HDLs) se asociaron negativamente a la proporción enzimática en las HDLs.

- Capacidad antioxidativa de las HDLs

Las HDLs son fundamentales para contrarrestar los fenómenos prooxidativos que sufren las lipoproteínas, sobre todo las LDLs, en diversas enfermedades y procesos inflamatorios y que constituyen un paso muy importante en la aterosclerosis.

La capacidad antioxidativa de las HDLs se evaluó mediante la determinación de la **inhibición de la movilidad electroforética relativa (Rf)** y el **incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación**.

El incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación era mayor en el conjunto de los pacientes, en aquellos con fenotipo B de LDL y en los de fenotipo hipercolesterolémico o mixto, tendiendo a serlo en los hipertriglicéridémicos y en los del fenotipo A de LDL. La inhibición de la movilidad electroforética relativa (Rf) también tendía a ser superior en el conjunto de los pacientes y en aquellos con fenotipo B de LDL.

Ambos parámetros se asociaban positivamente (o tendían a ello) a la proporción de apo A-II en las HDLs y a la actividad PAF-AH total. El incremento de la fase de latencia de oxidación se asociaba positivamente al colesterol total y al no HDL, a la Lp (a), al contenido de colesterol y de

triglicéridos de las HDLs y al GM-CSF, mientras que se asociaba negativamente a la proporción de apo A-I en las HDLs, a la apo A-II, a la proporción de PAF-AH en las HDLs y a la obesidad en los varones. El tamaño de las LDLs se correlacionó negativamente con el incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación y con la inhibición del Rf. La inhibición del Rf se asoció positivamente con la actividad PON-1.

Este resultado puede parecer a primera vista paradójico ya que la HFC condiciona un proceso inflamatorio crónico de bajo grado y fenómenos prooxidativos secundarios con una mayor tasa de LDL oxidada.

La explicación a este hallazgo podría haber sido interpretada como metodológica. Para determinar este parámetro, la HDL aislada de los dos grupos (pacientes y controles sanos) se ha de igualar a una concentración y esto se suele hacer igualando por uno de sus componentes, habitualmente el contenido de colesterol o la apo A-I. Si se emplea la apo A-I para igualar implicaría que en casos en que el contenido de apo A-I sea menor en la HDL en realidad estaríamos incluyendo más partículas de HDL y por tanto tendría la muestra más capacidad antioxidante. Por el contrario, si se iguala por el contenido en colesterol y éste estuviese aumentado en la HDL estaríamos incluyendo menos partículas de HDL en la muestra y ésta tendría menor capacidad antioxidante. Este problema podría ser evitado con la medición del número de partículas por RMN. En nuestro caso se utilizó el contenido de apo A-I para igualar las muestras pero no se obtuvieron diferencias significativas en la apo A-I entre los controles sanos y el conjunto de los pacientes con HFC, siendo solo significativa la variación al compararlos con aquellos con fenotipo B de las LDLs o aquellos que presentaban fenotipo hipertriglicéridémico. Aunque el ajuste por el contenido de apo A-I al valorar el incremento de la fase de oxidación de las LDLs potencialmente podría haber influenciado el resultado de este parámetro en los pacientes con fenotipo B de LDL y en los hipertriglicéridémicos, el mayor incremento de la fase de latencia estaba consistentemente presente en todos los subgrupos de pacientes y este aspecto tampoco explicaría la tendencia a mayor inhibición del Rf en el conjunto de pacientes ( $p 0,056$ ).

Por otro lado, se ha descrito en procesos inflamatorios de bajo grado que generan fenómenos oxidativos modificaciones en la distribución subpoblacional de las HDLs y en la funcionalidad de estas partículas. Se ha evidenciado una modificación de la distribución de las subpoblaciones de HDLs asociadas a las dislipemias produciendo generalmente un aumento de la proporción de las partículas pequeñas (HDL3b, HDL3c) y una disminución de la de las partículas grandes (HDL2b, HDL2a) (564). Del mismo modo, esta variación subpoblacional se ha descrito en cardiopatía isquémica, un proceso vinculado estrechamente a la aterosclerosis. Las HDL3 poseen una mayor capacidad antioxidante que las HDL2 en sujetos sanos normolipémicos (565) en relación entre otros a diferencias en su perfil fosfolipídico y esfingolipídico (ej. menor contenido de

esfingomielina), su menor contenido en colesterol (566), su mayor actividad PON-1 y más actividad PAF-AH (567). Sin embargo, el contenido de apo A-I, con un importante papel la maquinaria antioxidativa de las HDLs y destacado cofactor de enzimas implicados en la misma, es significativamente menor en las HDL3 mientras que la apo A-II se asocia preferentemente a ellas. En nuestro estudio, las concentraciones de apo A-II y la proporción de apo A-II en las HDLs fueron consistentemente superiores en todos los pacientes y la proporción de apo A-I en las HDLs inferior a la de los sujetos sanos en los pacientes con la dislipemia genética sin hipercolesterolemia ni fenotipo A de LDL. Este hallazgo plantea la hipótesis de un predominio proporcional de las HDL Lp A-I: A-II en las personas con esta enfermedad, las cuales como hemos comentado se hallan preferentemente en las HDL 3.

El efecto final de los hallazgos sobre la función antioxidativa de las HDLs en estos pacientes es difícil de poder interpretar.

Las elevadas concentraciones de LDL oxidada en todos los grupos de pacientes fueron implica un balance global desfavorable de la protección antioxidativa sobre estas partículas. Los parámetros determinados de la composición proteómica y a la actividad enzimática ligada a las HDLs en los pacientes sugerían cambios desfavorables en relación a la capacidad antioxidativa de estas partículas. Es de destacar además que se ha descrito que la apo A-II desplaza a la apo A-I y a la PON-1 de las HDLs deteriorando su capacidad antioxidativa asociada.

Sin embargo, el incremento de la fase de latencia de oxidación inducido por las HDLs era superior en los pacientes, especialmente en los del fenotipo B de LDL pero sin variar en función de su fenotipo lipídico. Además, la inhibición del Rf de las LDLs por las HDLs tendía a ser mayor en los sujetos con HFC de modo próximo a la significación estadística ( $p$  0,056) reflejando una menor tasa de oxidación de estas partículas.

Algunos factores potenciales podrían ofrecer una explicación a nuestros hallazgos.

Por un lado es probable que las HDLs presentes en esta enfermedad muestren rasgos disfuncionales, al igual que se ha hallado en otras enfermedades o dislipemias que confieren un sustrato inflamatorio crónico y un entorno prooxidativo.

Otro aspecto a considerar es la posibilidad que la disminución de la capacidad de protección de las HDLs sobre la oxidación de la LDL se dé en fases posteriores a la de latencia (lag phase) como en la fase de propagación quedando preservada la fase inicial de la cinética de oxidación. Este hecho se ha descrito en sujetos con síndrome metabólico y características similares a nuestros pacientes (cLDL elevado, hipertrigliceridemia, apo B elevada, exceso ponderal, concentraciones normales de apo A-I, no alteración de su actividad PON-1, actividad PAF-AH elevada, HDLs enriquecidas en triglicéridos y deplecionadas de ésteres de colesterol). En ellos la prolongación del lag phase de oxidación de la LDL obtenida por la adición de las subfracciones de HDL fue similar a la de los

controles normolipémicos no obesos. Los cambios en el lipidoma de sus HDLs se correlacionaron con la duración y la tasa de oxidación de la LDL durante la fase de propagación (568). Otros estudios han replicado la disminución de la capacidad de las HDLs de reducir la tasa de oxidación en la fase de propagación o de prolongar la misma en individuos con síndrome metabólico (569), con hipercolesterolemia familiar (570), con diabetes mellitus tipo 2 (571) o en sujetos con HDL bajo (572). Así en estudios con individuos con diabetes tipo 2 las subfracciones de HDL3c tanto de sujetos con diabetes tipo 2 como de los controles prolongaron significativamente el lag phase de oxidación de la LDL sin diferencias significativas entre ellos (571). En individuos con HDL bajo normotriglicéridémicos también la protección oxidativa de la LDL por las subfracciones de HDL era más pronunciada en los estadios tardíos de oxidación sin hallar efectos significativos en la fase de latencia (lag phase) (572). Ello ha llevado a plantear que los efectos antioxidativos de las subfracciones de HDLs son más pronunciados en las fases tardías de la oxidación de la LDL en las que se acumulan niveles altos de hidroperóxidos de lípidos y que tienen una limitada capacidad de proteger a la LDL en los estadios iniciales de oxidación cuando el nivel de hidroperóxidos de lípidos es bajo. Asimismo todas las subfracciones de la HDL retrasaron la oxidación de la LDL en las situaciones oxidativas leves pero ninguna de ellas protegió la LDL bajo situaciones fuertemente oxidativas, posiblemente condicionado por la saturación de los enzimas (y otras proteínas) protectoras por los elevados niveles de hidroperóxidos de lípidos o por la propia inactivación de los enzimas (572). Sin embargo y a diferencia de lo observado en nuestro estudio, en un estudio con miembros asintomáticos de familias con HFC el lag time para la oxidación de la LDL estaba reducido mostrando niveles plasmáticos aumentados de LDL oxidada al compararlos con los miembros no afectados (493).

En resumen, aunque no existe una explicación certera, los datos obtenidos sugieren la hipótesis que en la HFC, el incremento objetivado de la oxidación de las LDLs tiene lugar en fases avanzadas de la curva de oxidación lipoproteica y a pesar de un incremento de la fase de latencia al igual que se ha descrito en otros procesos metabólicos. Este hecho es concordante con características que reflejan una menor efectividad en la capacidad antioxidante de las HDLs como la tendencia a la reducción de la actividad PON-1 y de disminución de los niveles de apo A-I en los pacientes con hipertriglicéridemia, así como la menor proporción de PAF-AH en las HDLs en los de fenotipo mixto. En su conjunto todos estos hallazgos apuntan a un compromiso de la capacidad protectora de las HDLs en la HFC mediado no solamente por la reducción de sus concentraciones plasmáticas sino por cambios en su lipidoma y en su proteoma que alteran su funcionalidad en un entorno inflamatorio crónico y donde se favorecen procesos prooxidativos de estas lipoproteínas.

En el gráfico 13 se exponen las modificaciones de las HDLs halladas en la HFC en nuestro estudio.

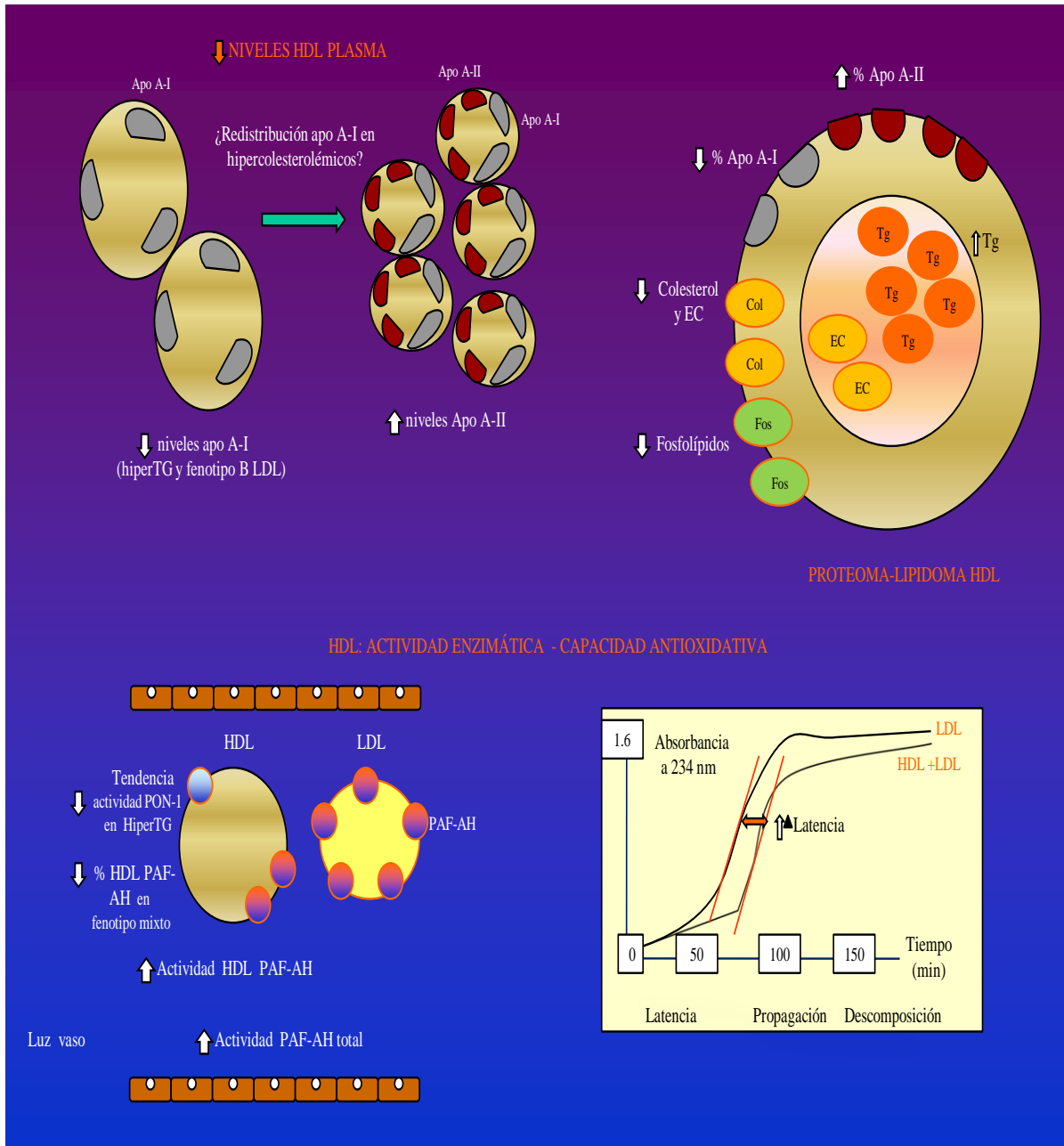


Gráfico 13. Modificaciones de las HDLs en la HFC en nuestro estudio.

En la HFC se ha hallado un aumento proporcional de la masa de apo A-II y una reducción de la de apo A-I. Las HDL estaban enriquecidas en triglicéridos y tenían menor contenido en colesterol y fosfolípidos. Las concentraciones plasmáticas de apo A-II estaban elevadas en el conjunto de pacientes y las de apo A-I disminuidas en los hipertrigliceridémicos o con fenotipo B de LDL. Los hallazgos en los sujetos hipercolesterolémicos plantean la hipótesis de una redistribución de la apo A-I entre las subpoblaciones de HDL. La actividad PAF-AH total y en las HDLs estaba aumentada y la actividad arilesterasa PON-1 tendía a disminuir en los pacientes hipertrigliceridémicos. La proporción de PAF-AH en las HDLs estaba reducida en los sujetos con HFC y fenotipo mixto. La fase de latencia de oxidación de las LDLs se incrementaba en mayor grado a los controles al añadir las HDLs de los pacientes.



## **5. MODIFICACIÓN DE LAS ALTERACIONES EN LA HFC CON LA TERAPEÚTICA HIPOLIPEMIANTE**

En un subgrupo de los pacientes con HFC incluidos en el estudio longitudinal evaluamos el efecto del tratamiento hipolipemiante sobre los parámetros lipídicos cuantitativos y cualitativos, biomarcadores de la inflamación y adipocitoquinas, así como las características de las HDLs.

### **5.1 Modificación de los parámetros metabólicos generales**

El tratamiento hipolipemiante consistió en dieta sola en el 7% de los sujetos, mientras que el 93% recibió tratamiento farmacológico (66.7% de ellos en monoterapia). En cuanto a los fármacos prescritos, tomaban estatinas (83.01%), fibratos (35.85%) y ezetimibe (5.66%). Además, un 5.66 % fueron tratados con pioglitazona por su diabetes tipo 2.

El tratamiento permitió reducciones marcadas de las concentraciones de colesterol total, cLDL, colesterol no HDL, de la apo B, de los triglicéridos, y un incremento aproximado del 8% del cHDL. Estas reducciones permitieron alcanzar objetivos de cLDL en el 23%, colesterol no HDL en el 26% y de apo B en el 37% de los pacientes. El tratamiento permitió incrementar los pacientes en objetivo de cLDL en un 16%, los de colesterol no HDL en un 26%, los de apo B en un 35 %, los de triglicéridos en un 38% y los de cHDL en un 12.28% (8% más en las mujeres y un 15.6 % en los varones). El 23% de los pacientes alcanzaron los objetivos combinados de cLDL + colesterol no HDL y el de cLDL + apo B. La consecución de objetivos es insuficiente e inferior a la observada en un estudio multicéntrico español llevado a cabo con 286 pacientes con HFC (573), en el que el 39% logró el objetivo primario de cLDL < 100 mg/dl. Las razones de la baja consecución de objetivos se justifican por el tiempo de seguimiento que limitó la intensificación del tratamiento en aquellos en los que no se alcanzaba el objetivo. En este sentido, el tiempo de seguimiento de nuestro estudio fue claramente inferior al del estudio de Lahoz y col. (573) en el que el seguimiento medio fue de 12.9 meses, los pacientes tomaban una media de  $1,57 \pm 0,63$  fármacos, un mayor porcentaje de los pacientes tomaba estatinas (94%) y un tercio de ellos tomaban estatinas de potencia alta o cualquier mezcla de estatina de moderada o alta potencia con ezetimiba.

Al considerar el fenotipo de las LDL, los pacientes con fenotipo A presentaban niveles de cLDL superiores a los del fenotipo B, mientras que los de triglicéridos eran más altos en estos últimos. Como era de esperar por el perfil lipídico inicial y el tratamiento hipolipemiante instaurado, la reducción de los parámetros relacionados con la hipercolesterolemia, especialmente el cLDL, fue

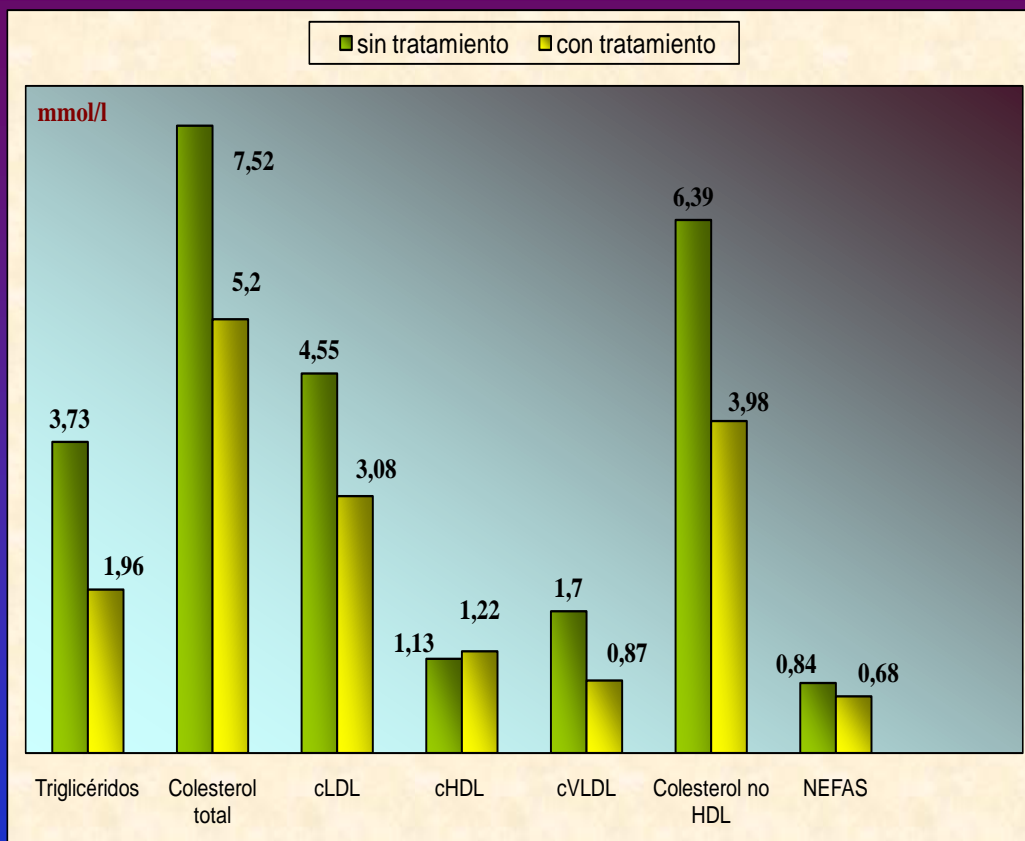
claramente superior en aquellos con fenotipo A, mientras que la reducción de triglicéridos y sus variables asociadas fue superior en los pacientes con fenotipo B.

La HFC se asocia a mayor resistencia a la insulina y riesgo de diabetes. Se ha objetivado un mayor incremento prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 en estos pacientes tras 5 años de seguimiento (20% vs 9%) en comparación al de sus conyuges (4% vs 2%) (68). Además, presentan con mayor frecuencia síndrome metabólico y glucemias basales más elevadas que la población general (8). La incidencia y el grado de estas afectaciones en los pacientes con HFC contribuyen a aumentar su riesgo cardiovascular y la aparición de eventos relacionados (77). La presencia de insulinoresistencia en esta enfermedad en relación a una disminución de la supresión de los NEFAS mediada por insulina y defectos en la captación de glucosa tisular mediada por insulina ya ha sido expuesta en esta tesis con anterioridad. El tratamiento con estatinas se ha relacionado con el incremento anual de la incidencia de diabetes tipo 2 aproximado de un 0,1% (574), el cual se ve acentuado en los pacientes de riesgo de desarrollarla, pero los mecanismos están por definir. En los sujetos con HFC se ha descrito una incidencia total de diabetes tipo 2 del 20% tras 14 años de uso de estatina (575). En el presente estudio el tratamiento hipolipemiante no se asoció a cambios en la HbA1c ni en las concentraciones de insulina en el conjunto de los pacientes ni en aquellos con fenotipo B de LDL. En los sujetos con HFC y fenotipo A de LDL no varió la HbA1c pero hubo un incremento significativo leve de la insulinemia si bien no modificó la ausencia de diferencias de este parámetro respecto a los del fenotipo B durante el estudio. La ausencia de modificaciones del peso corporal, el perímetro de cintura ni en el IMC en el conjunto de la cohorte, así como el efecto de otros fármacos hipolipemiantes adicionales a las estatinas podrían contribuir a la ausencia de modificación de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado.

Los fibratos a través de la activación PPAR $\alpha$  pueden tener un efecto beneficioso en la insulino sensibilidad, reduciendo los triglicéridos plasmáticos y la adiposidad (576), (577),(578),(579). También se ha descrito que el ezetimibe puede aumentar la tolerancia a la glucosa mejorando la insulinoresistencia y el HOMA posiblemente a través de una reducción de la esteatosis hepática y de los triglicéridos intrahepáticos en obesos (580). Las glitazonas mejoran la insulino resistencia y la tolerancia a la glucosa y retrasan el inicio de la diabetes mellitus tipo 2 en varios ensayos (581) (582) . Así, pioglitazona, comparada con placebo, redujo el riesgo de conversión de intolerancia a la glucosa a diabetes mellitus tipo 2 en un 72 % a lo largo de 2.4 años en un estudio clínico aleatorizado (583).

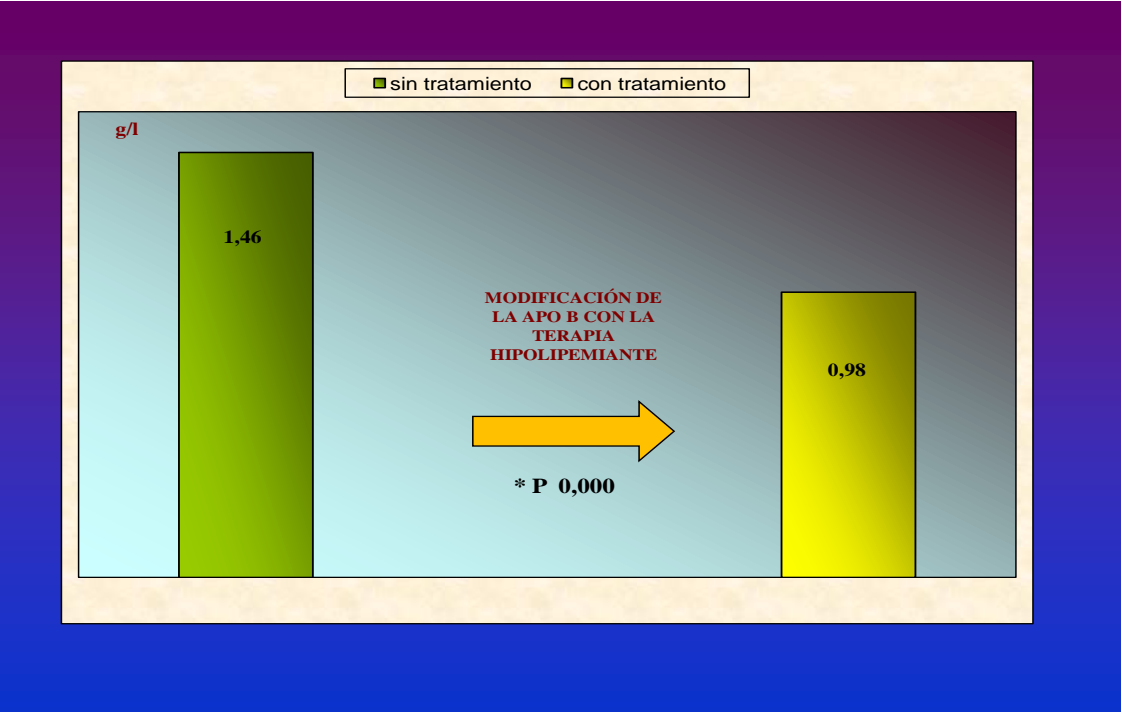
En los gráficos 14 y 15 se muestran los cambios lipídicos tras el tratamiento hipolipemiante.

Gráfico 14. Modificación global de los parámetros lipídicos durante el estudio con la terapia hipolipemiente



\* P <0,005 en todos los casos

Gráfico 15. Modificación global de la apo B con el tratamiento hipolipemiante



## **5.2 Modificaciones de las LDLs con el tratamiento**

Después del tratamiento hipolipemiante, paralelamente a la reducción cuantitativa de los parámetros lipídicos, también observamos cambios favorables en las alteraciones cualitativas de las LDL presentes en los pacientes con HFC no tratados.

El incremento del tamaño de las LDLs con el tratamiento supuso un cambio del fenotipo medio de las LDLs en los pacientes con HFC, pasando del fenotipo B inicial ( $25,33 \pm 0,58$  nm) al fenotipo A medio final ( $25,66 \pm 0,47$  nm). La modificación fue a expensas del subgrupo de pacientes con fenotipo B inicial en los que el tamaño de sus partículas aumentó de  $24,94 \pm 0,42$  nm a  $25,55 \pm 0,50$  nm, mientras que el tamaño de las LDLs no se modificó en aquellos que mostraban un fenotipo A al inicio del estudio. Por lo tanto, el tratamiento consigue revertir en gran medida las alteraciones en el patrón de distribución de las LDL en los pacientes con HFC. El efecto observado es acorde con la reducción de la hipertrigliceridemia inicial y el mayor uso de fibratos en aquellos con fenotipo B de LDL. Las estatinas disminuyen el total de partículas LDL, incluidas las LDL pequeñas y densas, sin modificar el patrón de distribución, mientras que los fibratos solos o en combinación con estatinas disminuyen específicamente las LDL pequeñas y densas, modificando el patrón de distribución (584), (585). Nuestro estudio confirma en pacientes con HFC este efecto de los fibratos, esencialmente en combinación con estatinas, sobre el tamaño de las LDL y su estrecha relación con la reducción de los triglicéridos.

Inicialmente, ni los niveles de LDL negativa ni los de LDL oxidada diferían significativamente en los subgrupos de pacientes según su fenotipo (B ó A) de las LDLs pese a ser superior la LDL oxidada en los del fenotipo B ( $93,25 + 24,95$  mUI/l vs  $87,71 + 25,29$  mUI/l, respectivamente,  $p$  0,240). La terapia hipolipemiante disminuyó las concentraciones de LDL oxidada en la población con HFC. Aunque la proporción de LDL oxidada era similar antes del tratamiento en los subgrupos con fenotipo A y B de las LDL, la reducción fue más marcada en los pacientes con fenotipo A. El efecto dosis-dependiente de las estatinas sobre las concentraciones de LDL oxidada (586) y la relación de la reducción de la LDL oxidada con el descenso del colesterol total, colesterol no HDL y cLDL, sugiere que el mayor descenso de la LDL oxidada en los individuos con fenotipo A de LDL está ligado a la utilización de estatinas a dosis equipotentes superiores y combinaciones de estatina-ezetimiba en este subgrupo de pacientes. Las concentraciones de LDL oxidada dependen también de la sensibilidad de las partículas de LDL a la oxidación, de modo que la LDL pequeña y densa contiene cantidades menores de antioxidantes y, por lo tanto, es más propensa a la oxidación (169), (587), (588). Ello junto con la mayor reducción y consecución de niveles inferiores de cLDL

en los pacientes con fenotipo A, justifican la mayor proporción de LDL oxidada en los pacientes con fenotipo B tras el tratamiento hipolipemiante.

Aunque se han descrito reducciones de la LDL electronegativa con estatinas y con ezetimiba, (589) en el presente estudio la proporción de LDL (-) no se modificó significativamente tras el tratamiento e incluso se incrementó en los pacientes con fenotipo A, si bien sus niveles finales seguían sin diferir de los del fenotipo B como al inicio del estudio. No disponemos de una explicación definitiva a la ausencia de modificación y sobre todo al incremento en los pacientes con fenotipo A pero podría tener relación con la gran heterogeneidad de estas partículas de LDL modificadas por diversos mecanismos y que comparten como característica común un aumento de la electronegatividad (589). Por otra parte, el efecto de la terapia de simvastatina en la proporción de LDL (-) no es paralelo a la reducción del colesterol, lo que sugiere que el efecto sobre la modificación de LDL sería independiente de la reducción del colesterol (590).

En los gráficos 16, 17 y 18 se muestran los cambios de las LDL con la terapia hipolipemiante.

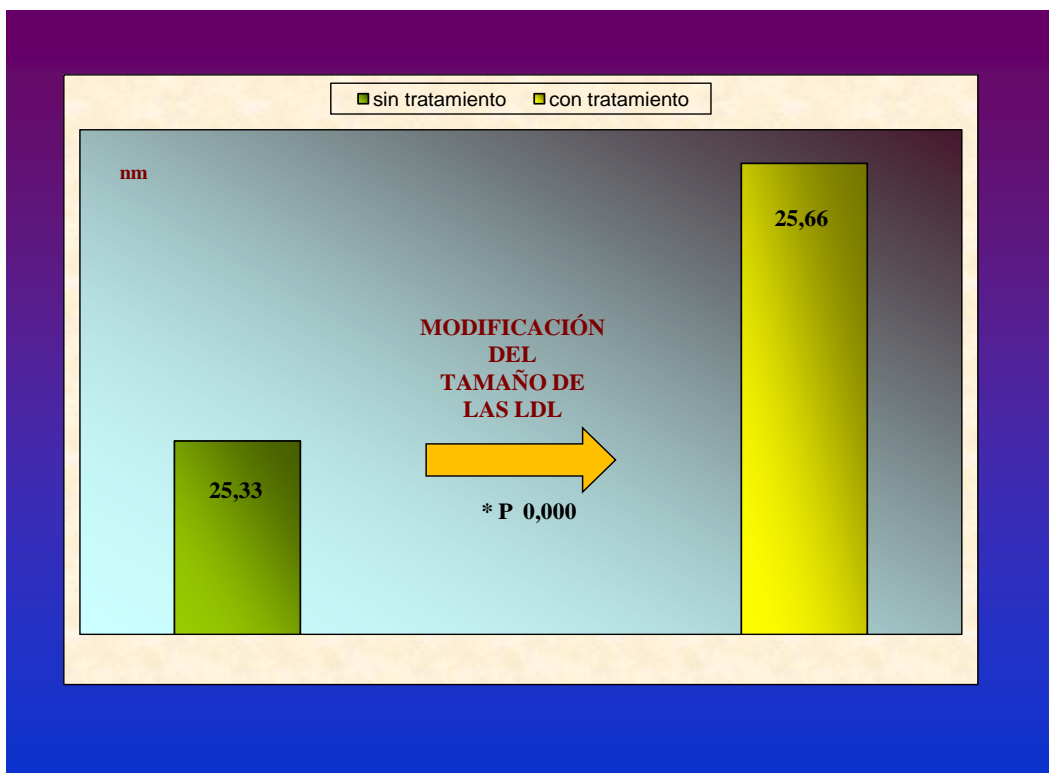


Gráfico 16. Modificación global del tamaño de las LDLs con el tratamiento.

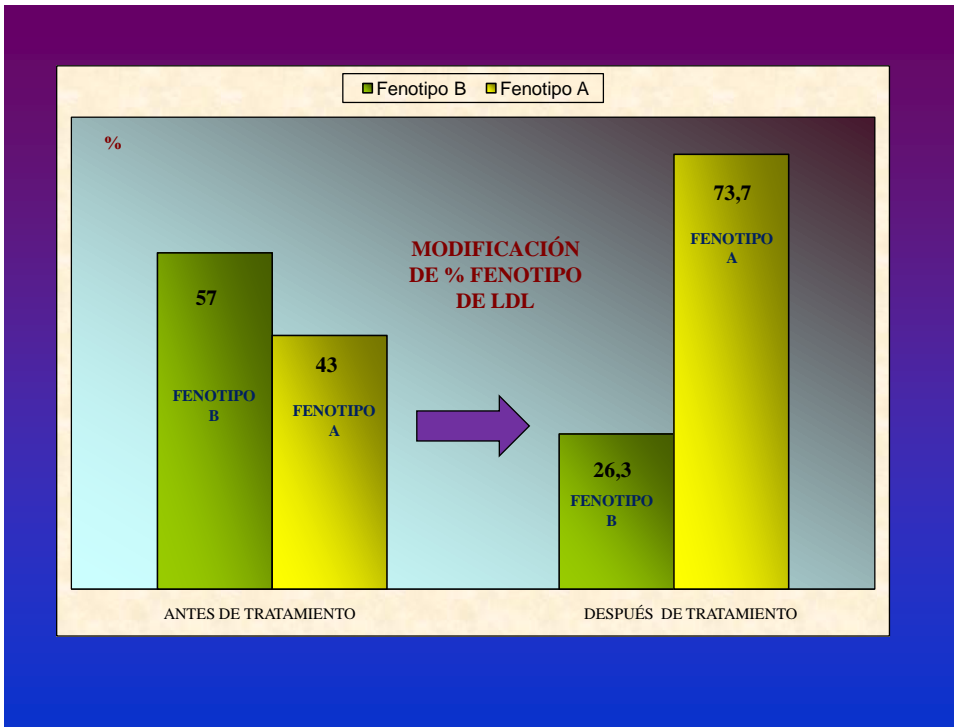


Gráfico 17 . Modificación de la proporción de fenotipos de LDL con el tratamiento.

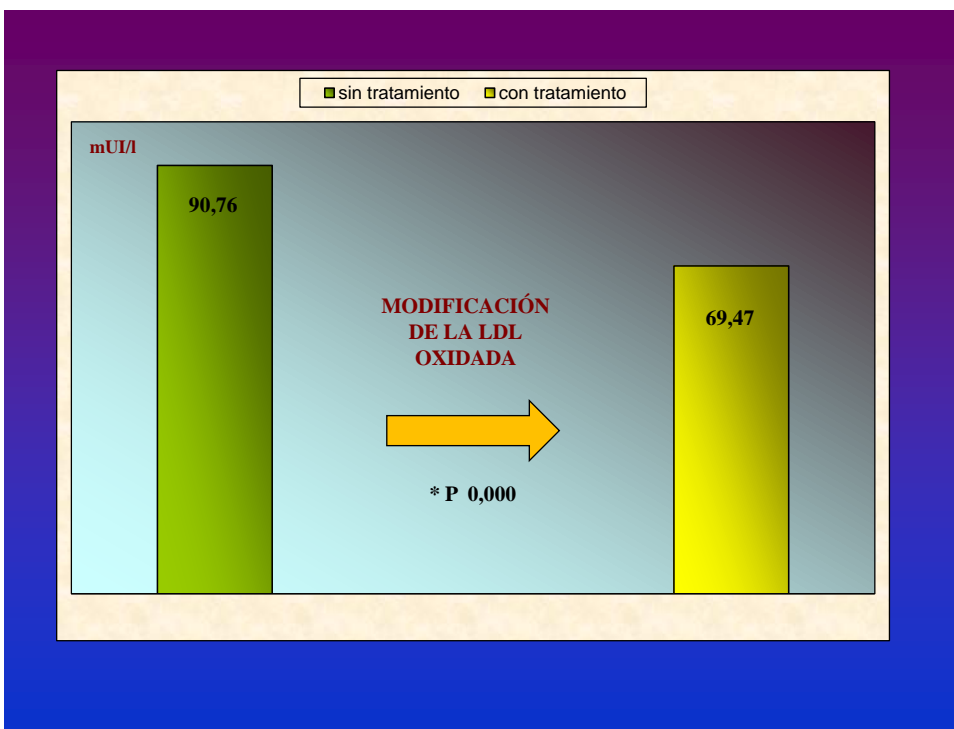


Gráfico 18. Modificación global de la LDL oxidada con el tratamiento.

### **5.3 Modificaciones de los parámetros inflamatorios-citoquinas**

Como ya reseñamos en el estudio transversal, la HFC se asocia a un estado inflamatorio de bajo grado donde se evidencian cambios en el patrón de citoquinas, adipocitoquinas y quimioquinas leucocitarias.

El perfil de citoquinas (PCR, IL-6, IL-8, TGF $\beta$ ), quimioquinas leucocitarias (MCP-1, GM-CSF) y adipocitoquinas (leptina y adiponectina), aunque tiende a mejorar en algunos de los parámetros estudiados, no se modifica de forma significativa tras el tratamiento. El tratamiento permitió una reducción significativa de la leptina en los pacientes con fenotipo B de LDL y tendencias a la disminución de la IL-6 (en el límite de la significación estadística) y al incremento del TGF $\beta$  en la cohorte total. No obstante, dichos cambios no modificaron la ausencia de diferencias en los niveles de estos biomarcadores entre sujetos de ambos fenotipos de LDL en el estudio.

La proteína C reactiva (PCR), que se sintetiza en el hígado bajo el control de citoquinas inflamatorias, incluida la interleukina (IL) -6, es el marcador de inflamación sistémica más estudiado y que predice mejor los eventos cardiovasculares futuros. En sujetos con factores de riesgo cardiovascular, las estatinas reducen la proteína C reactiva circulante y los niveles de citoquinas proinflamatorias (591). La disminución del nivel de PCR después de la terapia con estatinas en ensayos clínicos respalda el efecto antiinflamatorio de las estatinas, independientemente de la disminución de los niveles de lípidos (592), (593), (594), (591). También los fibratos (595), (596) y el ezetimibe, tanto en la monoterapia (597) como en su adición a diferentes estatinas en terapia combinada (597), (598) han demostrado reducciones en los niveles de PCR. La ausencia de modificaciones significativas en nuestro estudio podría estar relacionada con la amplia variación de los niveles de los marcadores y el reducido tamaño de la muestra, dada la reducción de la IL-6 en el límite de la significación estadística y su conocido papel como mediador de la secreción hepática de PCR (468).

La disminución de la leptina en los pacientes con fenotipo B de las LDLs se relaciona con su descenso ponderal si bien los estudios con estatinas han mostrado su contribución a este efecto (599).



#### **5.4 Modificaciones en las características de las HDLs con la terapia hipolipemiante**

Tal como hemos objetivado en el estudio transversal, como resultado de las alteraciones lipídicas y enzimáticas que se producen en el microentorno inflamatorio y prooxidativo en la HFC, las HDLs sufren modificaciones en sus niveles plasmáticos, en su composición proteica y lipídica y en su funcionalidad enzimática. Sin embargo, la información sobre la posible reversibilidad de estos efectos con la medicación hipolipemiante es escasa.

##### *a) Proteoma de las HDLs*

En el presente estudio, como era de esperar por los valores iniciales, la asociación a hipertrigliceridemia y la mayor utilización de la terapia combinada con estatina-fibratos, el incremento del 8% en las concentraciones de cHDL tras el tratamiento hipolipemiante fue a expensas del incremento del 18.75% en los pacientes con fenotipo B. La apo A-I mostró una tendencia a un discreto incremento durante el estudio en el conjunto de los pacientes (p 0,071). La modificación de las concentraciones del cHDL se acompañó de un aumento significativo de los niveles de apo A-I y apo A-II en los pacientes con fenotipo B de LDL, y de una disminución de la apo A-II en aquellos con fenotipo A. Sin embargo, estos cambios no se acompañaron de modificaciones significativas en las proporciones de ambas lipoproteínas en la masa de las HDLs. De este modo persistía en los sujetos con el fenotipo B contenidos proporcionales bajo de apo A-I y elevado de apo A-II en sus HDLs a diferencia de la normalidad de dichas proporciones en los del fenotipo A.

Estos efectos son compatibles con el incremento moderado de las estatinas y ezetimiba sobre la producción de la apo A-I (600),(601),(602) y el incremento de los fibratos sobre la producción de apo A-I y apo A-II (603). Los fibratos aumentan preferencialmente las concentraciones de las HDLs que contienen apo A-I + apo A-II de propiedades fisicoquímicas intermedias entre las de las HDL2 grandes y las HDL3 pequeñas y densas (604), (603). Los efectos de los fibratos en las subpoblaciones de HDLs son el resultado en parte de la regulación positiva que ejercen en la expresión génica de apo A-I y apo A-II, pero el aumento de los niveles plasmáticos de apo A-I es menor ya que su tasa catabólica fraccionada en plasma está acelerada (605). En un estudio reciente, tras tratamiento con pitavastatina en pacientes con síndrome metabólico y dislipemia mixta durante 180 días, se observó una tendencia al aumento de los niveles bajos de apo A-I y en menor medida de los de apo A-II, así como una redistribución preferente de la apo A-I a las HDLs con Lp A-I:A-II y un aumento en los niveles de las HDLs con Lp A-I: A-II en todas las subfracciones de las HDLs excepto en las HDL3c, mientras que el contenido de Lp A-I disminuyó en las HDL3a (606). Ezetimibe mostró en un estudio un aumento de las HDLs pequeñas y en menor grado de las HDL

intermedias con un descenso de las HDLs grandes, efecto opuesto al obtenido con simvastatina y al de la combinación de ambas en hombres sanos sin enfermedad cardiovascular (607).

*b) Lipidoma de las HDLs*

Por lo que respecta a la alteración en la composición lipídica de las HDL, el tratamiento hipolipemiente revertió el enriquecimiento en el contenido de triglicéridos y NEFAs de las HDL en el conjunto de pacientes a expensas esencialmente de la reducción del contenido de triglicéridos en las HDL de los pacientes con fenotipo B, de modo que los pacientes con fenotipo B de las LDL inicial seguían teniendo un menor contenido de colesterol. Por lo tanto, el tratamiento hipolipemiente mejoró la composición de las HDL en triglicéridos y NEFA en relación con la reducción de los triglicéridos y NEFAS plasmáticos y probablemente la inhibición del CETP.

Las estatinas inducen descensos en la actividad CETP y en la masa plasmática de este enzima tanto en sujetos hipercolesterolémicos como en aquellos con dislipemia mixta (608),(609), siendo el efecto parcialmente dependiente del fenotipo lipídico basal. Los fibratos también han demostrado reducir la actividad de CETP en plasma y además disminuir los niveles de las lipoproteínas ricas en triglicéridos aceptoras de ésteres de colesterol, sobre todo VLDL1, en pacientes con dislipemia mixta (610),(611),(612). En ambos casos, este efecto se traduce en una menor transferencia de triglicéridos a las HDLs a cambio de ésteres de colesterol como hemos hallado en nuestro estudio. En un estudio reciente (606) el tratamiento con pitavastatina en pacientes con dislipemia mixta y síndrome metabólico redujo el elevado contenido inicial en triglicéridos de las HDL (42% en HDL2b, 40% en HDL2a, 36% en HDL3a y 49% en HDL3b y 3c) y aumentó el bajo contenido inicial en ésteres de colesterol (16% en HDL2a, 19% en HDL3a, 18% en HDL3b y 112% en HDL3c), aumentando la ratio EC/TG en todas las subfracciones de HDL.

*c) Actividad enzimática asociada a las HDLs*

Las actividades enzimáticas de las HDL como la PON1 y la PAF-AH intervienen en la funcionalidad de las HDLs, y se modifican con la terapia hipolipemiente. En nuestro estudio, la tendencia al incremento de las concentraciones de PON-1 a expensas sobretodo de los pacientes con fenotipo B de LDL inicial confirma los hallazgos de estudios previos con estatinas y fibratos (613).

Aunque el efecto de los fibratos no es uniforme (614), (615), en un reciente metaanálisis incluyendo nueve estudios con doce brazos de tratamiento los fibratos producían un aumento significativo de la actividad PON1 sérica (616). En un metaanálisis de 25 ensayos clínicos con estatinas, incluyendo simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina, la terapia con estatina se asociaba a un aumento significativo de las actividades PON1 paraoxonasa y arilesterasa pero no con la

concentración de proteína PON1 (617). Estos efectos eran independientes de la dosis de la estatina, de la duración del tratamiento y de los cambios en los niveles plasmáticos de LDL. Por otra parte, en un estudio en individuos con hipercolesterolemia y exceso ponderal la terapia con ezetimibe durante 6 meses produjo un descenso no significativo de la actividad PON1 posiblemente en relación a un descenso de niveles de cHDL pero un aumento significativo del cociente actividad PON1/niveles cLDL sugiriendo una mayor potencia de la HDL contra la oxidación de la LDL (618).

En cuanto a la actividad PAF-AH, el tratamiento hipolipemiante se asoció a una reducción de la actividad PAF-AH total y de la actividad PAF-AH en las HDLs, y produjo un incremento en la proporción de PAF-AH de las HDLs. Este efecto es consistente con el observado en la mayoría de estudios con estatinas (619) (562) (620) y la reducción se produce en paralelo a la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol. Los fibratos han demostrado tener un efecto sobre actividad PAF-AH y la distribución de la PAF-AH entre las lipoproteínas. En un estudio con individuos con diabetes tipo 2, la adición de fenofibrato a una estatina durante 12 semanas disminuyó la actividad PAF-AH total y la actividad PAF-AH en las HDLs sin modificar la capacidad antioxidativa de las HDLs (615). En un estudio en pacientes con hiperlipemias de tipo IIa, IIb y IV, el tratamiento con fenofibrato redujo la actividad PAF-AH en todos los grupos de pacientes. La reducción de dicha actividad en aquellos con hiperlipemia tipo IIa se debió principalmente a un descenso de la actividad enzimática asociada a la LDLs densas, mientras que la disminución de la actividad en los sujetos con hiperlipemia IIb y IV se debió al descenso de la actividad enzimática asociada con las VLDLs, IDLs y LDL densas. Además, el fenofibrato aumentó significativamente la actividad PAF-AH asociada con las HDLs debido en un incremento de la actividad enzimática asociada a las HDL-3c (621). En un estudio griego en individuos con hipercolesterolemia y exceso ponderal la terapia con ezetimibe durante 6 meses produjo un descenso no significativo de la actividad PAF-AH de las HDLs, posiblemente debido a un descenso de los niveles de cHDL, pero un aumento significativo del cociente actividad PAF-AH de la HDL/niveles cLDL (618).

#### *d) Capacidad antioxidativa de las HDLs*

Como ya indicamos previamente, la terapia hipolipemiante disminuyó las elevadas concentraciones de LDL oxidada en la población con HFC. Uno de los factores implicados en las concentraciones de LDL oxidada es la sensibilidad de las partículas de LDL a la oxidación y la protección a las LDL contra la oxidación es una de las actividades antiaterogénicas que poseen las partículas HDL.

En nuestro estudio, la disminución de la oxidación de las LDLs obtenida parece deberse principalmente al efecto farmacológico sobre las concentraciones de cLDL en relación al conocido efecto dosis-dependiente de las estatinas sobre las concentraciones de LDL oxidada (586) y su relación con el descenso del colesterol total y cLDL.

La esperable mejoría de la capacidad antioxidante de las HDLs no se evidenció tras el tratamiento hipolipemiante en nuestro estudio. La inhibición del Rf inducida por las HDLs no se modificó significativamente en los pacientes con la dislipemia. Por su parte, el incremento de la fase de latencia (lag phase) de oxidación producido por la adición de las HDLs a las LDLs se redujo durante el estudio en el conjunto de los pacientes pero a expensas únicamente de aquellos con fenotipo B inicial de las LDLs. Este hecho puede resultar sorprendente pero se han de tener en cuenta algunos aspectos a la hora de su valoración.

Si bien es cierto que las LDLs pequeñas y densas son más susceptibles a la oxidación como ya hemos explicado con anterioridad, se ha descrito en las LDLs que su enriquecimiento relativo en triglicéridos (bien en porcentaje o en su proporción respecto al contenido de colesterol de estas partículas) se relacionaba fuertemente y de modo positivo con la duración de su fase de latencia de oxidación (lag phase) tras exposición a cobre, incluso tras ajustar por las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos (623). Los sujetos con fases de latencia de oxidación de las LDLs más prolongadas presentaban hipertrigliceridemia y la adición de las HDLs produjo un importante aumento del lag phase de oxidación de las LDLs. Otros estudios han corroborado el hallazgo de lag phase de oxidación de las LDLs más prolongados en la hipertrigliceridemia y su reversión a la normalidad tras la terapia con fibratos (624). En nuestro estudio el tratamiento redujo notablemente las concentraciones de triglicéridos plasmáticos en todos los pacientes y en las HDLs en los del fenotipo B de LDL y presumiblemente, tal como se ha publicado, se debió reducir el contenido de triglicéridos de las LDLs en estos sujetos. De hecho en nuestro estudio transversal el incremento de la fase de latencia de oxidación se correlacionaba positivamente con el contenido en triglicéridos y en colesterol de las HDLs y tendía a ello con las VLDLs ( $p$  0,071), mientras que la inhibición del Rf tendía a correlacionarse positivamente con el contenido en triglicéridos de las HDLs ( $p$  0,051).

Por otro lado, solo en los sujetos con fenotipo B de LDL, en los cuales se redujo su lag phase de oxidación, se evidenció un incremento significativo de las concentraciones de HDL, de apo A-I, de apo A-II y una tendencia al aumento de la actividad PON-1, aunque a diferencia de los del fenotipo A su proporción de PAF-AH en las HDLs no se modificó significativamente y era algo inferior aunque no de modo significativo a la de los del fenotipo A. Además ya hemos comentado que en procesos asociados con inflamación de bajo grado como las dislipemias existe una disfuncionalidad en las HDLs y es posible que en nuestro estudio los cambios en la composición enzimática,

proteómica o lipidómica de estas lipoproteínas no hayan sido suficientes en magnitud como para revertir la disfuncionalidad.

Es cierto que se ha documentado el efecto de los fármacos hipolipemiantes sobre la fase de latencia de oxidación de las LDLs. Diversos estudios con **estatinas** han demostrado un efecto de estos fármacos sobre la resistencia a la oxidación de las lipoproteínas. Así en estudios con animales de experimentación, la terapia durante 4 semanas con fluvastatina prolongó significativamente el lag time de oxidación de la LDL oxidada por iones de cobre ex vivo en las LDLs de conejos hipercolesterolémicos tras dieta rica en grasas (625). En un estudio aleatorizado doble ciego en sujetos hipercolesterolémicos con enfermedad arterial coronaria establecida, la terapia con fluvastatina y pravastatina durante 24 semanas redujo significativamente la susceptibilidad de la LDL a la oxidación medida por la producción de conjugados dienos inducidos por cobre y por AAPH, dando lugar a una tasa reducida de oxidación de la LDL por ambos compuestos y una prolongación del lag time de oxidación (lag phase) inducida por AAPH. (626). En un estudio con pacientes hipercolesterolémicos (627), la monoterapia con **ezetimibe** durante tres meses prolongó el lag time para la oxidación de las LDL un 35%. La adición de ezetimibe a una terapia con simvastatina indujo un aumento del lag time de oxidación por sulfato de cobre en un 48% comparado con la monoterapia con simvastatina. Las **glitazonas** también tienen efectos a este nivel. En un modelo de ratones con diabetes tipo 2, el tratamiento con troglitazona o pioglitazona durante 4 semanas prolongó significativamente el lag time de los conjugados dienos y redujeron los niveles de TBARS que refleja el contenido de peróxidos lipídicos en plasma (628).

Finalmente, y como ya hemos apuntado con anterioridad, hallazgos en pacientes con síndrome metabólico y en otras dislipemias han llevado a plantear que la actividad antioxidativa de las HDLs tenga lugar preferentemente en las fases de oxidación tardías posteriores a la fase de latencia pues ésta se ha hallado preservada en muchos casos donde la tasa oxidativa de la LDL estaba aumentada y los efectos han sido vistos en la fase de propagación. Los efectos antioxidativos de las subfracciones de HDLs son más pronunciados en las fases tardías de la oxidación de la LDL donde se acumulan niveles altos de hidroperóxidos de lípidos y tienen una limitada capacidad de proteger a la LDL en los estadios iniciales de oxidación cuando el nivel de hidroperóxidos de lípidos es bajo. Este aspecto no ha sido valorado en nuestro estudio, ya que disponemos solo de los datos referentes al incremento de la fase de latencia de oxidación de las LDLs pero no de los referentes al efecto de las HDLs sobre las fases posteriores del proceso oxidativo de estas lipoproteínas, pero supone una explicación plausible a los resultados hallados.

En los gráficos 19 y 20 se muestran los cambios en la composición lipídica de las HDLs y en las concentraciones de apolipoproteínas tras el tratamiento farmacológico.

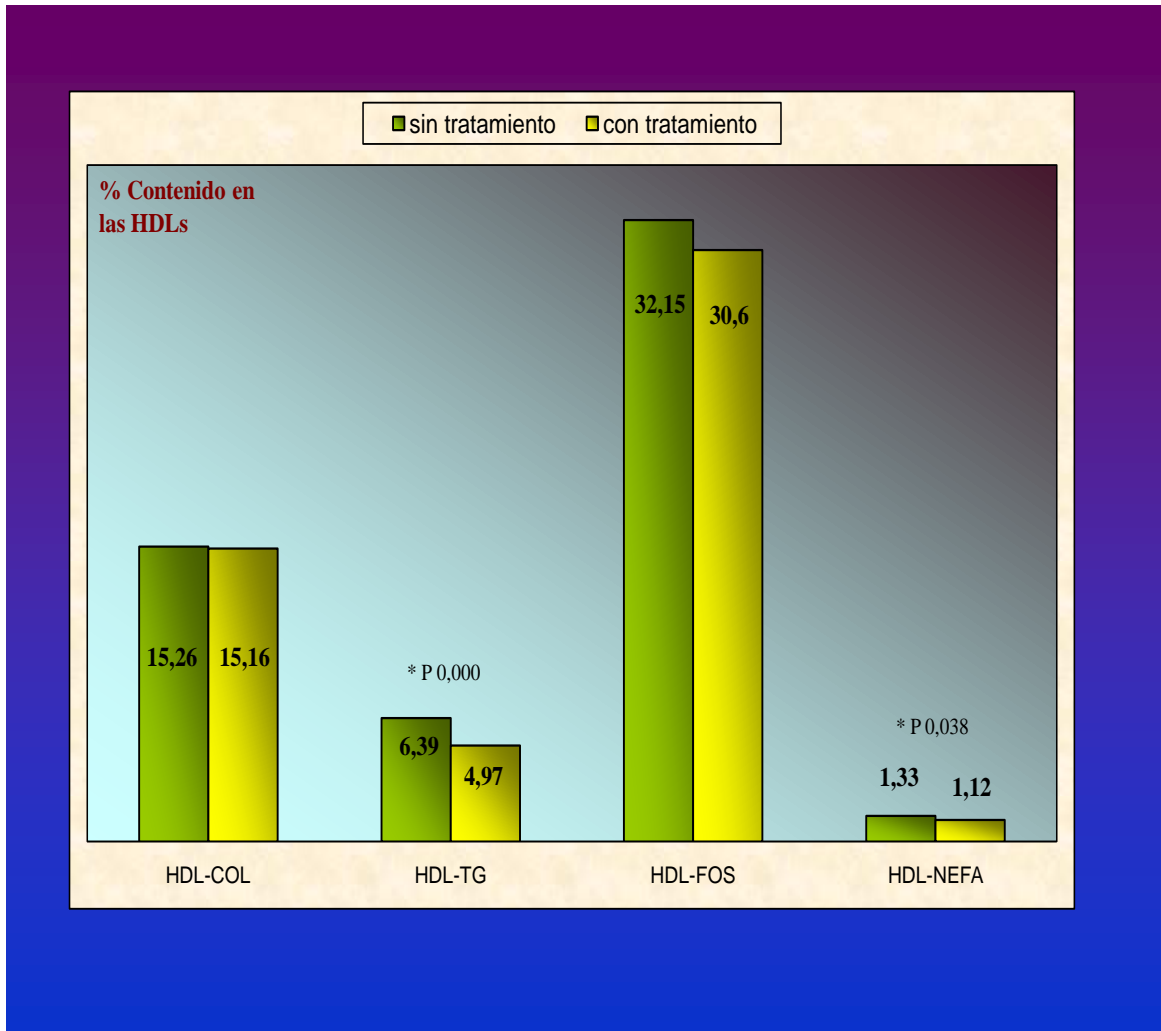


Gráfico 19. Modificaciones del lipidoma de las HDLs con el tratamiento durante el estudio.

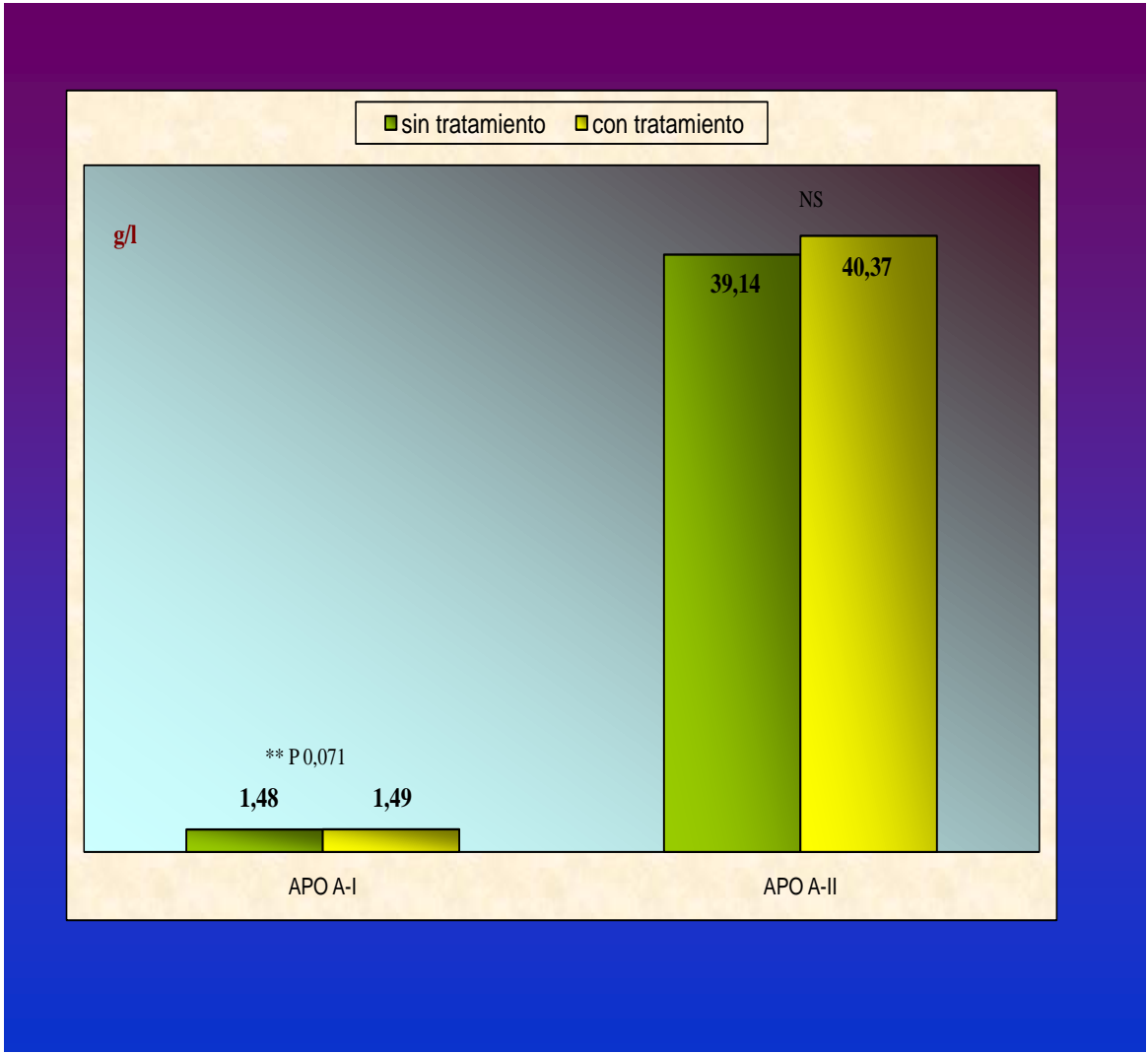


Gráfico 20. Modificaciones de las concentraciones plasmáticas de apolipoproteínas con el tratamiento durante el estudio.

## **APORTACIONES DEL ESTUDIO**

Esta tesis doctoral explica los resultados de dos estudios que, a nuestro parecer, representan una importante contribución al conocimiento de una enfermedad compleja en su definición y a menudo infradiagnosticada.

En primer lugar expone una visión de manera integral de las manifestaciones de esta entidad y que subyacen a la importante repercusión desfavorable en el pronóstico cardiovascular de estos pacientes. Este aspecto se aborda en un aspecto global de la enfermedad y en un análisis de los diferentes fenotipos lipídicos posibles, un hecho poco reflejado en la literatura científica sobre esta enfermedad. No hemos hallado estudios que detallen de manera extensa los diferentes procesos que predisponen al desarrollo de aterosclerosis en estos pacientes, partiendo de su vinculación a un proceso inflamatorio de bajo grado, la asociación a fenómenos prooxidativos de las lipoproteínas y la modificación de las propiedades de las HDLs favoreciendo su disfuncionalidad. En este sentido es importante destacar la contribución que supone a la descripción de características disfuncionales de las HDLs en esta enfermedad, un hallazgo descrito en la literatura científica en otros procesos patológicos como la cardiopatía isquémica o enfermedades de fase aguda y en algunas dislipemias genéticas, pero escasamente reflejado al respecto de la hiperlipemia familiar combinada.

Por lo que respecta a las aportaciones del estudio longitudinal creemos que hay diversos aspectos reseñables. En un primer lugar es notorio destacar que el abordaje terapéutico que se ha realizado en el estudio estaba dictado por la práctica clínica y no sujeto al planteamiento específico de algunos ensayos clínicos, lo cual constituye un reflejo de la actitud médica habitual en estos pacientes y como tal permite extraer conclusiones destacables. En este sentido, un importante porcentaje de pacientes no se situaban en objetivos terapéuticos lipídicos al finalizar el estudio pese a una mejoría sustancial de las principales alteraciones lipídicas. Este aspecto debe constituir una reflexión al respecto de la selección del fármaco y de la potencia terapéutica adecuada para lograr situar a estos pacientes de alto riesgo en condiciones óptimas lo antes posible de manera razonable. Asimismo hace preciso una mayor intensificación dietética que permita modificaciones ponderales sustanciales a corto plazo.



## **LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Algunas de las posibles limitaciones de este estudio son inherentes a la entidad patológica que tratamos. La hiperlipemia familiar combinada es una enfermedad cuya expresión clínica y bioquímica es el resultado de la interacción de una base genética y una serie de factores ambientales que la modulan dando lugar al fenotipo que muestra el afectado. La complejidad radica en buena parte en el carácter poligénico de la enfermedad y en la diversidad de genes cuyas variantes han sido asociadas al proceso en los diferentes estudios. La ausencia de un rasgo genético principal que condicione la presencia de la enfermedad hace concebirla más como una sucesión de rasgos genéticos anómalos de impacto menor o moderado que se acumulan en mayor o menor grado y cuya coincidencia en un momento vital concreto del individuo determina la expresión fenotípica mostrada. Este hecho subyace en el carácter heterogéneo de la entidad donde los rasgos clínicos y bioquímicos de la enfermedad de un individuo son el reflejo de la interacción en ese instante de su predisposición genética y factores vitales como el estilo de vida pudiendo variar la expresividad en base a dicha interacción a lo largo de su vida. Por tanto, la imagen clínica captada de un individuo en un estudio queda modulada por dicha interacción en ese momento.

Por otro lado, los diferentes estudios clínicos publicados sobre esta enfermedad sugieren una heterogeneidad genética que tiene diferente representatividad según la zona geográfica de la población analizada. Así pues, quizás el sustrato genético y la expresividad fenotípica de la población de nuestro estudio sea probablemente más representativa del área mediterránea y de un estilo de vida determinado.

La población no seleccionada que participó en nuestro estudio transversal tenía mayor edad y mayor peso que la población sin la dislipemia con la que se comparó. Este hecho puede haber influido en parte en los resultados observados aunque también es un reflejo de la frecuente coexistencia del exceso ponderal en esta enfermedad y, por tanto, un hallazgo habitual en la asistencia diaria a esta patología.

En lo referente a las características del estudio, aunque el tamaño muestral es considerable para un estudio de un solo centro, posiblemente algunas de las respuestas esperables del tratamiento farmacológico hipolipemiente en el estudio longitudinal, en especial las referentes a la modificación de los parámetros inflamatorios y las citoquinas o de las características proteómicas y lipídicas de las HDLs, hubieran podido ser más favorables analizando una mayor población y durante un tiempo de seguimiento más prolongado. No obstante, precisamente la limitación del seguimiento temporal de los pacientes favorece una menor interferencia potencial de otros factores (dietéticos, farmacológicos,...) en los resultados y garantiza una mayor fiabilidad de los mismos.

## **CONCLUSIONES**



## **CONCLUSIÓN GENERAL:**

La hiperlipemia familiar combinada, además de las alteraciones lipoproteicas cuantitativas, se caracteriza por un sustrato inflamatorio crónico de bajo grado y modificaciones fisico-químicas proaterogénicas de las partículas LDL y HDL, que son parcialmente reversibles con el tratamiento hipolipemiente a corto plazo.

La hiperlipemia familiar combinada muestra rasgos lipídicos asociados a aterogenicidad, un sustrato inflamatorio crónico de bajo grado evidenciado por marcadores reconocidos del mismo, modificaciones oxidativas de sus LDLs, y sus HDLs sufren alteraciones en la composición lipídica y proteica así como en la actividad enzimática ligada a las mismas que en su conjunto favorecen un elevado riesgo cardiovascular. La terapia hipolipemiente consigue reducir a corto plazo la actividad PAF-AH total y los cambios proaterogénicos de las HDLs y de las LDLs, si bien no se logra una mejoría sustancial de los marcadores del proceso inflamatorio. Los efectos beneficiosos de dicho tratamiento sobre las alteraciones de las lipoproteínas y sobre la actividad PAF-AH total podrían permitir una disminución significativa de la elevada aterogenicidad y riesgo cardiovascular asociados a la enfermedad.

## CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

- La HFC se asocia a una inflamación de bajo grado, caracterizada por niveles plasmáticos elevados de proteína C reactiva y de quimioquinas leucocitarias, que la terapia hipolipemiente a corto plazo no revierte.
- La hiperlipemia familiar combinada promueve modificaciones de las partículas LDL, favoreciendo su reducción de tamaño y aumento de densidad (fenotipo B) y modificaciones oxidativas, que son reversibles con la terapia hipolipemiente.
- Las partículas HDL de los pacientes con HFC presentan modificaciones en su proteoma y lipidoma con enriquecimiento en apo A-II y triglicéridos y reducción de la apo A-I, que mejoran con el tratamiento hipolipemiente.
- La actividad PAF-AH total y en las HDL está aumentada en las personas con HFC, que se corrige tras el tratamiento hipolipemiente.
- La reducción de las concentraciones de LDL oxidada con la terapia hipolipemiente parece más dependiente de la reducción de las concentraciones de las LDL que de la modificación de su susceptibilidad a la oxidación por las HDL.

## **LINEAS DE FUTURO**

La hiperlipemia familiar combinada es una enfermedad muy prevalente con un riesgo cardiovascular elevado. Aún así, la disponibilidad de información específica sobre los factores de riesgo y los fenómenos asociados al proceso aterosclerótico precoz subyacente son insuficientes y los resultados detallados en esta tesis doctoral contribuyen a un mejor conocimiento de los mismos. En este sentido se aportan nuevas evidencias sobre las modificaciones físico-químicas de las partículas de LDL y HDL y la capacidad funcional de estas últimas en los pacientes con esta dislipemia genética, así como el efecto sobre los mismos del tratamiento hipolipemiante a corto plazo.

A la luz de los resultados expuestos en este trabajo se plantean futuras líneas de actuación y de investigación. En lo que respecta a la caracterización de las HDLs en estos pacientes se abren diversas posibilidades de investigación. En la cardiopatía isquémica y en otras dislipemias se ha hallado una disfuncionalidad de las HDLs pero son escasos e indirectos los datos previos referentes a este hecho en la HFC. Sería interesante ampliar el estudio de la funcionalidad de estas lipoproteínas en esta enfermedad evaluando otras propiedades de estas partículas como el transporte reverso del colesterol y un estudio más completo de su capacidad antioxidativa. En nuestro estudio se evaluó el efecto de las HDLs sobre la fase de latencia del proceso oxidativo de las LDLs y se halló un aumento de la misma en los sujetos con HFC y una reducción de ésta con la terapia hipolipemiante. Este hecho se acompañaba de una disminución de los niveles de LDL oxidada tras el tratamiento en relación con el descenso de la LDL. No obstante, hay publicaciones que sugieren que el papel protector de las HDLs se da en fases posteriores a la misma. Por tanto, el estudio de los efectos de las HDLs sobre la fase de propagación de la curva de oxidación de la LDL y su respuesta a la terapia farmacológica permitiría una mejor comprensión del proceso subyacente.

Además, sería interesante estudiar de modo directo la distribución subpoblacional de las HDLs en esta enfermedad. En nuestro estudio se ha evidenciado un incremento consistente de las concentraciones plasmáticas y de la masa total de apo A-II en las HDLs y cabe la posibilidad de que refleje un aumento de las partículas de Lp A-I:A-II en la enfermedad. Asimismo la masa proporcional de apo A-I en las HDLs estaba disminuida en los pacientes con algunos fenotipos lipídicos. Se ha descrito una disminución de las formas grandes de las HDLs y un incremento de las pequeñas en otras dislipemias y en el síndrome metabólico, en paralelo a la disfuncionalidad de las partículas. Una descripción completa de este aspecto en la HFC vinculado al estudio funcional de las mismas y su reversibilidad con el tratamiento aportarían quizás argumentos para tener en cuenta no solo las concentraciones totales sino también la tipología de las partículas a la hora de considerar el riesgo y la actuación clínica en estos pacientes.

Los pacientes con HFC han demostrado tener un estado inflamatorio de bajo grado pero en nuestro estudio tras un período corto de tratamiento no se consiguió modificar significativamente. Además los objetivos de control lipídico logrados tras la terapia en dicho plazo fueron insuficientes. Ambos aspectos pueden implicar la necesidad de un tratamiento más intensivo desde el inicio en estos pacientes. Por otra parte, respecto al proceso inflamatorio quizás el limitado tiempo de seguimiento y el tamaño muestral en el estudio pudieron influir en la ausencia de resultados significativos. Por tanto, un estudio sobre la respuesta de las características inflamatorias en la HFC con un mayor tamaño muestral, una mayor intensificación terapéutica y un mayor tiempo de seguimiento posiblemente puedan evidenciar mejoría en este aspecto a juzgar por los resultados de los estudios clínicos con estatinas y fibratos en estos parámetros en otros procesos metabólicos.

## **BIBLIOGRAFIA**





## HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

1. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary artery disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest.* 1973; 52: 1544-68.
2. Sniderman AD, Castro Cabezas M, Ribalta J, Carmena R, de Bruin TW, de Graaf J et al. A proposal to redefine familial combined hyperlipidaemia -- third workshop on FCHL held in Barcelona from 3 to 5 May 2001, during the scientific sessions of the European Society for Clinical Investigation. *Eur J Clin Invest.* 2002 Feb;32 (2):71-3.
3. Wiesbauer F, Blessberger H, Azar D, Goliash G, Wagner O, Gerhold L, et al. Familial-combined hyperlipidaemia in very young myocardial infarction survivors (< or =40 years of age). *Eur Heart J.* 2009 May; 30(9):1073-9.
4. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province MA, Pankow JS, Eckfeldt JH, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation.* 2003 Aug 5; 108(5):519-23.
5. Porkka KVK, Nuotio I, Pajukanta P, Ehnholm C, Suurinkeroinen L, Syväne K, et al. Phenotype expression in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 1997;133: 245-53.
6. Gaddi A, Cicero AFG, Poli A, Paoletti R. Practical guidelines for familial combined hyperlipidemia diagnosis: An up-date. *Vascular Health and Risk Management* 2007;3(6) 877–886
7. Brouwers MC, van Greevenbroek MM, Vermeulen VM, van LinJM, van der Kallen CJ, de Bruin TW. Five-year follow up of waist circumference, insulin and ALT levels in familial combined hyperlipidaemia. *Clin Sci (Lond).* 2007; 113: 375-81.
8. Skoumas J, Papadimitriou L, Pitsavos C, Masoura C, Giotas N, Chrysohoou C, et al. Metabolic syndrome prevalence and characteristics in Greek adults with familial combined hyper-lipidemia. *Metabolism.* 2007; 56: 135-41.
9. Brouwers MC, van Greevenbroek MM, Stehouwer CD, de Graaf J, Stalenhoef AF. The genetics of familial combined hyperlipidaemia. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:352–362.

10. van der Kallen CJ, Voors-Pette C, de Bruin TW. Abdominal obesity and expression of familial combined hyperlipidemia. *Obes Res* 2004; 12:2054–2061.
11. Brahm AJ, Hegele RA. Combined hyperlipidemia: familial but not (usually) monogenic. *Curr Opin Lipidol* 2016, 27(2):131–140
12. Auer S, Hahne P, Soyak SM, Felder T., Miller K., Paulmichi M., et al. Potential role of upstream stimulatory factor 1 gene variant in familial combined hyperlipidemia and related disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32:1535–1544.
13. Brouwers MC, van Greevenbroek MM, Troutt JS, Bonner Freeman A, Lu A, Schaper NC, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin kexin type 9 is a heritable trait of familial combined hyperlipidaemia. *Clin Sci (Lond)* 2011; 121:397–403
14. Baila-Rueda L, Mateo-Gallego R, Jarauta E, de Castro-Orós I, Bea AM, Cenarro A, et al. Bile acid synthesis precursors in familial combined hyperlipidemia: the oxysterols 24S-hydroxycholesterol and 27-hydroxycholesterol. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Apr 11;446(3):731-5
15. Lupattelli G, Siepi D, De Vuono S, Roscini AR, Crisanti F, Covelli D, et al. Cholesterol metabolism differs after statin therapy according to the type of hyperlipemia. *Life Sci.* 2012 Jun 6;90(21-22):846-50.
16. van Himbergen TM, Otokozawa S, Matthan NR, Schaefer EJ, Buchsbaum A, Ai M, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with alterations in the cholesterol synthesis pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Jan;30(1):113-20
17. Brouwers MC, Konrad RJ, van Himbergen TM, Isaacs A, Otokozawa S, Troutt JS, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin kexin type 9 levels are related to markers of cholesterol synthesis in familial combined hyperlipidemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013 Nov;23(11):1115-21.
18. Horswell SD, Fryer LG, Hutchison CE, Zindrou D, Speedy HE, Town MM, et al. CDKN2B expression in adipose tissue of familial combined hyperlipidemia patients. *J Lipid Res.* 2013 Dec;54(12):3491-505.
19. van Greevenbroek MM, Ghosh S, van der Kallen CJ, Brouwers MC, Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Up-regulation of the complement system in subcutaneous adipocytes from

- nonobese, hypertriglyceridemic subjects is associated with adipocyte insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Dec;97(12):4742-52.
20. Sniderman AD, Ribalta J, Castro Cabezas M. How should FCHL be defined and how should we think about its metabolic bases? *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2001 Aug;11(4):259-73
  21. Hokanson JE, Austin MA, Zambon A, Brunzell JD. Plasma triglyceride and LDL heterogeneity in familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb.* 1993 Mar;13(3):427-34
  22. Venkatesan S, Cullen P, Pacy P, Halliday D, Scott J. Stable isotopes show a direct relation between VLDL apoB overproduction and serum triglyceride levels and indicate a metabolically and biochemically coherent basis for familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb.* 1993 Jul; 13(7):1110-8.
  23. Evans K, Burdge GC, Wootton SA, Collins JM, Clark ML, Tan GD, et al. Tissue-specific stable isotope measurements of postprandial lipid metabolism in familial combined hyperlipidaemia. *Atherosclerosis.* 2008 Mar; 197(1):164-70.
  24. Meijssen S, Derksen RJ, Bilecen S, Erkelens DW, Cabezas MC. In vivo modulation of plasma free fatty acids in patients with familial combined hyperlipidemia using lipid-lowering medication. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr;87(4):1576-80
  25. Campagna F, Montali A, Baroni MG, Maria AT, Ricci G, Antonini R, et al. Common variants in the lipoprotein lipase gene, but not those in the insulin receptor substrate-1, the beta3-adrenergic receptor, and the intestinal fatty acid binding protein-2 genes, influence the lipid phenotypic expression in familial combined hyperlipidemia. *Metabolism.* 2002 Oct;51(10):1298-305.
  26. Aouizerat BE, Allayee H, Cantor RM, Dallinga-Thie GM, Lanning CD, de Bruin TW, et al. Linkage of a candidate gene locus to familial combined hyperlipidemia: lecithin:cholesterol acyltransferase on 16q. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Nov;19(11):2730-6.
  27. Pihlajamäki J, Karjalainen L, Karhapää P, Vauhkonen I, Taskinen MR, Deeb SS, et al. G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jul;20(7):1789-95.

28. Verseyden C, Meijssen S, Castro Cabezas M. Postprandial changes of apoB-100 and apoB-48 in TG rich lipoproteins in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2002 Feb;43(2):274-80.
29. Babirak SP, Brown BG, Brunzell JD. Familial combined hyperlipidemia and abnormal lipoprotein lipase. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:1176–83
30. Hoffer MJ, Bredie SJ, Boomsma DI, Reymer PW, Kastelein JJ, de Knijff P, et al. The lipoprotein lipase (Asn291-->Ser) mutation is associated with elevated lipid levels in families with familial combined hyperlipidaemia. *Atherosclerosis.* 1996 Jan 26; 119(2):159-67.
31. Saxena U, Witte LD, Goldberg IJ. Release of endothelial lipoprotein lipase by plasma lipoproteins and free fatty acids. *J Biol Chem* 1989;264:4349–55
32. Ong JM, Kirchgessner TG, Schotz MC, Kern PA. Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem* 1988;263:12933–8
33. Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ, Gibson JC, Rubinstein A, Wang-Iverson P et al. Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins CIII and AI. Evidence that apolipoprotein CIII inhibits catabolism of triglyceride-rich lipoproteins by lipoprotein lipase in vivo. *J Clin Invest.* 1986 Nov;78(5):1287-95.
34. Baila-Rueda L, Cenarro A, Lamiquiz-Moneo I, Perez-Calahorra S, Bea AM, Marco-Benedí V. Cholesterol oversynthesis markers define familial combined hyperlipidemia versus other genetic hypercholesterolemias independently of body weight. *J Nutr Biochem.* 2018 Mar; 53:48-57.
35. Garcia-Otin AL, Cofan M, Junyent M, Recalde D, Cenarro A, Pocovi M, et al. Increased intestinal cholesterol absorption in autosomal dominant hypercholesterolemia and no mutations in the low-density lipoprotein receptor or apolipoprotein B genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 3667–3673.
36. Kissebah AH, Alfarsi S, Evans DJ. LDL metabolism in familial combined hyperlipidemia. Mechanism of the multiple lipoprotein phenotypic expression. *Arteriosclerosis,* 1984; 4:614–24.

37. Vakkilainen J, Vakkilainen J, Pajukanta P, Cantor RM, Nuotio IO, Lahdenperä S, et al. Genetic influences contributing to LDL particle size in familial combined hyperlipidaemia. *Eur J Hum Genet.* 2002 Sep; 10(9):547-52.
38. Liu ML, Ylitalo K, Vakkilainen J, Nuotio I, Valkonen M, Lahdenperä S, et al. Susceptibility of LDL to oxidation in vitro and antioxidant capacity in familial combined hyperlipidemia: comparison of patients with different lipid phenotypes. *Ann Med.* 2002; 34(1):48-54.
39. Soro A, Jauhiainen M, Ehnholm C, Taskinen MR. Determinants of low HDL levels in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2003 Aug;44(8):1536-44.
40. Georgieva AM, van Greevenbroek MM, Krauss RM, Brouwers MC, Vermeulen VM, Robertus-Teunissen MG, et al. Subclasses of low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein in familial combined hyperlipidemia: relationship to multiple lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Apr;24(4):744-9.
41. Taskinen M. Insulin resistance and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995;6:153–60
42. Tchernof A, Lamarche B, Prud'Homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F, et al. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care.* 1996 Jun;19(6):629-37.
43. Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest* 1995; 95:158–66.
44. Castro Cabezas M, de Bruin TWA, de Valk HW, Shoulders CC, Jansen H, Erkelens DW. Impaired fatty acid metabolism in familial combined hyperlipidemia. A mechanism associating hepatic apolipoprotein B overproduction and insulin resistance. *J Clin Invest* 1993;92:160–8
45. Randle P, Hales C, Garland P, Newsholme E. The glucose fatty acid cycle and its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963;1:785–9
46. Lamarche B. Abdominal obesity and its metabolic complications: implications for the risk of ischaemic heart disease. *Coron Artery Dis* 1998;9:473–81

47. Purnell JQ, Kahn SE, Schwartz RS, Brunzell JD. Relationship of insulin sensitivity and apoB levels to intra-abdominal fat in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:567–72
48. Bredie SJH, Tack CJJ, Smits P, Stalenhoef AFH. Non-obese patients with familial combined hyperlipidemia are insulin resistant as compared with their non-affected relatives. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1465–71
49. Aitman TJ, Godsland IF, Farren B, Crook D, Wong HJ, Scott J. Defects of insulin action on fatty acid and carbohydrate metabolism in familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17: 748–54
50. Karjalainen L, Pihlajamaki J, Karhapaa P, Laakso M. Impaired insulin-stimulated glucose oxidation and free fatty acid suppression in patients with familial combined hyperlipidemia: a precursor defect for dyslipidemia? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1548–53
51. Pihlajamaki J, Karjalainen L, Karhapaa P, Vauhkonen I, Laakso M. Impaired free fatty acid suppression during hyperinsulinemia is a characteristic finding in familial combined hyperlipidemia, but insulin resistance is observed only in hypertriglyceridemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:164–70
52. de Graaf J, Veerkamp MJ, Stalenhoef AF. Metabolic pathogenesis of familial combined hyperlipidaemia with emphasis on insulin resistance, adipose tissue metabolism and free fatty acids. *J R Soc Med.* 2002; 95 Suppl 42:46-53.
53. Vakkilainen J, Porkka KV, Nuotio I, Pajukanta P, Suurinkeroinen L, Ylitalo K, et al. Glucose intolerance in familial combined hyperlipidaemia. EUFAM study group. *Eur J Clin Invest.* 1998 Jan; 28(1):24-32.
54. Meijssen S, Castro Cabezas M, Twickler TB, Jansen H, Erkelens DW. In vivo evidence of defective postprandial and postabsorptive free fatty acid metabolism in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2000;41:1096–102
55. Arner P, Bernard S, Salehpour M, Possnert G, Liebl J, Steier P, et al. Dynamics of human adipose lipid turnover in health and metabolic disease. *Nature.* 2011 Sep 25; 478(7367):110-3.
56. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Cianflone K, Degerman E, Hoffstedt J, Nilsell K, et al. Mechanisms involved in the regulation of free fatty acid release from isolated human fat

- cells by acylation-stimulating protein and insulin. *J Biol Chem.* 1999 Jun 25; 274(26):18243-51.
57. Ylitalo K, Pajukanta P, Meri S, Cantor RM, Mero-Matikainen N, Vakkilainen J, et al. Serum C3 but not plasma acylation-stimulating protein is elevated in Finnish patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 May;21(5):838-43.
58. Saleh J, Summers LKM, Cianflone K, Fielding BA, Sniderman AD, Frayn KN. Coordinated release of acylation stimulating protein (ASP) and triacylglycerol clearance by human adipose tissue in vivo in the postprandial period. *J Lipid Res* 1998;39:884–91
59. Meijssen S, van Dijk H, Verseyden C, Erkelens DW, Cabezas MC. Delayed and exaggerated postprandial complement component 3 response in familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 May 1; 22(5):811-6.
60. Reynisdottir S, Eriksson M, Angelin B, Arner P. Impaired activation of adipocyte lipolysis in familial combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1995;95:2161–9
61. Ylitalo K, Large V, Pajukanta P, Reynisdottir S, Porkka KV, Vakkilainen J, et al. Reduced hormone-sensitive lipase activity is not a major metabolic defect in Finnish FCHL families. *Atherosclerosis.* 2000 Dec;153(2):373-81.
62. Ylitalo K, Nuotio I, Viikari J, Auwerx J, Vidal H, Taskinen MR. C3, hormone-sensitive lipase, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in adipose tissue of familial combined hyperlipidemia patients. *Metabolism.* 2002 May;51(5):664-70.
63. Mata P, Alonso R, Ruíz-García A, Díaz-Díaz JL, González N, Gijón-Conde T, et al. [Familial combined hyperlipidemia: consensus document]. *Aten Primaria.* 2014 Oct;46(8):440-6.
64. Arner P. Is familial combined hyperlipidaemia a genetic disorder of adipose tissue?. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8:89-94
65. Mc Neely M, Edwards K, Marcovina S, Brunzell J, Motulsky A, Austin M. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001; 159:471-481
66. Austin M, McKnight B, Edward K. Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: A 20 year prospective study. *Circulation* 2000; 101:2777-2782.



67. Lewis GF, Xiao C, Hegele RA. Hypertriglyceridemia in the genomic era: a new paradigm. *Endocr Rev.* 2015 Feb;36(1):131-47
68. Brouwers MC, van der Kallen CJ, Schaper NC, van Greevenbroek MM, Stehouwer CD. Five-year incidence of type 2 diabetes mellitus in patients with familial combined hyperlipidaemia. *Neth J Med.* 2010 Apr; 68(4):163-7.
69. Grundy SM, Chait A, Brunzell JD. Familial Combined Hyperlipidemia Workshop. *Arteriosclerosis* 1987; 7:203-207
70. Del Rincón-Jarero JP, Aguilar-Salinas CA, Guillén-Pineda LE, Gómez-Pérez FJ, Rull JA. Lack of agreement between the plasma lipid based criteria and the apoprotein B for the diagnosis of Familial Combined Hyperlipidemia (FCHL) in members of FCHL kindreds. *Metabolism* 2002; 51:218-224
71. Aguilar-Salinas CA, Zamora M, Gómez-Díaz RA, Mehta R, Gómez-Pérez FJ, Rull JA. Familial combined hyperlipidemia: controversial aspects of its diagnosis and pathogenesis. *Semin Vasc Med* 2004; 4: 203-209
72. Veerkamp MJ, de Graaf J, Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Nomogram to diagnose familial combined hyperlipidemia on the basis of results of a 5-year follow-up study. *Circulation.* 2004 Jun 22; 109(24):2980-5.
73. Sniderman AD, Castro-Cabezas M, Ribalta J, Carmena R, de Bruin TWA, de Graaf JA. Proposal to redefine familial combined hyperlipidemia-Third workshop on FCHL. *Eur J Clin Invest* 2002; 32:71-73
74. Ayyobi AF, Brunzell JD. Lipoprotein distribution in the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and familial combined hyperlipidemia. *Am J Cardiol*, 2003; 92:27J–33J.
75. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J.* 2011 Jul; 32(14):1769-818.
76. Cicero A.F.G., C. Martini, V. Nativio, A. Reggiani, A. Dormi, A. Gaddi. Association between lipidic phenotype variability and CHD/CVD in a large rural population: The Brisighella Study. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Stockholm, Sweden,

June 25-29, 2000. Conference Paper in *Atherosclerosis* 151(1):105-106 · June 2000  
Pag 105 Book of abstracts (acceso al abstract del poster)

77. Skoumas I, Masoura C, Aznaouridis K, Metaxa V, Tsokanis A, Papadimitriou L, et al. Impact of cardiometabolic risk factors on major cardiovascular events in patients with familial combined hyperlipidemia. *Circ J.* 2013; 77(1):163-8.

#### RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA HFC

78. Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: Importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2601 – 2607.
79. Skoumas I, Masoura C, Pitsavos C, Tousoulis D, Papadimitriou L, Aznaouridis K, et al. Evidence that non-lipid cardiovascular risk factors are associated with high prevalence of coronary artery disease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia or familial combined hyperlipidemia. *Int J Cardiol.* 2007 Oct 1; 121(2):178-83.
80. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J.* 2016 Oct 14; 37(39):2999-3058.
81. Kastelein JJ, van der Steeg WA, Holme I, Gaffney M, Cater NB, Barter P, et al; TNT Study Group; IDEAL Study Group. Lipids, apolipoproteins, and their ratios in relation to cardiovascular events with statin treatment. *Circulation.* 2008 Jun 10;117(23):3002-9.
82. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al; PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2013 Apr 4; 368(14):1279-90.
83. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al; Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 2002 Feb 7; 346(6):393-403.
84. Gardner CD, Kiazand A, Alhassan S, Kim S, Stafford RS, Balise RR, et al. Comparison of the Atkins, Zone, Ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors

- among overweight premenopausal women: the A TO Z Weight Loss Study: a randomized trial. *JAMA*. 2007 Mar 7; 297(9):969-77.
85. Johnson JL, Slentz CA, Houmard JA, Samsa GP, Duscha BD, Aiken LB, et al. Exercise training amount and intensity effects on metabolic syndrome (from Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise). *Am J Cardiol*. 2007 Dec 15; 100(12):1759-66.
  86. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010 Nov 13; 376(9753):1670-81.
  87. ACCORD Study Group, Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR 3rd, Leiter LA, Linz P, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2010 Apr 29; 362(17):1563-74.
  88. Naoumova RP, Kindler H, Leccisotti L, Mongillo M, Khan MT, Neuwirth C, et al. Pioglitazone improves myocardial blood flow and glucose utilization in nondiabetic patients with combined hyperlipidemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Nov 20; 50(21):2051-8.
  89. Pitsavos C, Skoumas I, Masoura C, Aznaouridis K, Papadimitriou L, Chrysohoou C, et al. Prevalence and determinants of coronary artery disease in males and females with familial combined hyperlipidaemia. *Atherosclerosis*. 2008 Aug; 199(2):402-7.
  90. Fournier JA, Cabezón S, Cayuela A, Ballesteros SM, Cortacero JA, Díaz De La Llera LS. Long-term prognosis of patients having acute myocardial infarction when  $\leq 40$  years of age. *Am J Cardiol* 2004; 94:989–992.
  91. Chen L, Chester M, Kaski JC. Clinical factors and angiographic features associated with premature coronary artery disease. *Chest* 1995;108: 364–369.
  92. Rallidis LS, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Sinos L, Stefanadis C, Kremastinos DT. Non-high density lipoprotein cholesterol is the best discriminator of myocardial infarction in young individuals. *Atherosclerosis* 2005; 179:305–309.
  93. Barbash GI, White HD, Modan M, Diaz R, Hampton JR, Heikkila J, et al. Acute myocardial infarction in the young—the role of smoking. The Investigators of the International Tissue Plasminogen Activator/Streptokinase Mortality Trial. *Eur Heart J* 1995; 16:313–316.

94. Coresh J, Kwiterovich PO, Smith HH, Bachorik PS. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 1993; 34:1687–1697.
95. Scaglione L, Bergerone S, Gambino R, Imazio M, Macchia G, Cravetto A, et al. Role of lipid, apolipoprotein levels and apolipoprotein E genotype in young Italian patients with myocardial infarction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999; 9:118–124.
96. Zimmerman FH, Cameron A, Fisher LD, Ng G. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry). *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:654–661.
97. Koivisto UM, Hamalainen L, Taskinen MR, Kettunen K, Kontula K. Prevalence of familial hypercholesterolemia among young north Karelian patients with coronary heart disease: a study based on diagnosis by polymerase chain reaction. *J Lipid Res* 1993; 34:269–277.
98. Genest JJ, Martin-Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992; 85: 2025–2033).
99. Skoumas I, Masoura C, Pitsavos C, Tousoulis D, Papadimitriou L, Aznaouridis K, et al. Evidence that non-lipid cardiovascular risk factors are associated with high prevalence of coronary artery disease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia or familial combined hyperlipidemia. *Int J Cardiol* 2007; 121: 178 – 183.
100. Voors-Pette C, de Bruin TW. Excess coronary heart disease in Familial Combined Hyperlipidemia, in relation to genetic factors and central obesity. *Atherosclerosis*. 2001 Aug; 157(2):481-9.
101. Guardamagna O, Abello F, Saracco P, Baracco V, Rolfo E, Pirro M. Endothelial activation, inflammation and premature atherosclerosis in children with familial dyslipidemia. *Atherosclerosis*. 2009 Dec; 207(2):471-5.
102. Keulen ET, Kruijshoop M, Schaper NC, Hoeks AP, de Bruin TW. Increased intima-media thickness in familial combined hyperlipidemia associated with apolipoprotein B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:283-8.
103. Junyent M, Zambón D, Gilabert R, Cofán M, Núñez I, Ros E. Carotid atherosclerosis in familial combined hyperlipidemia associated with the APOB/APOA-I ratio. *Atherosclerosis* 2008; 197:740-6.

104. Hausmann D, Johnson JA, Sudhir K, Mullen WL, Friedrich G, Fitzgerald PJ, et al. Angiographically silent atherosclerosis detected by intravascular ultrasound in patients with familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia: correlation with high density lipoproteins. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Jun; 27(7):1562-70.
105. Brouwers MC, Reesink KD, van Greevenbroek MM, Meinders JM, van der Kallen CJ, Schaper N, et al. Increased arterial stiffness in familial combined hyperlipidemia. *J Hypertens.* 2009 May; 27(5):1009-16.
106. Montalcini T, Gorgone G, Gazzaruso C, Pujia A. Carotid distension and distensibility impairment in individuals affected by familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2010 Sep; 212(1):177-80.
107. Paramsothy P, Knopp RH, Bertoni AG, Blumenthal RS, Wasserman BA, Tsai MY, et al. Association of combinations of lipid parameters with carotid intima-media thickness and coronary artery calcium in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol.* 2010 Sep 21; 56(13):1034-41.
108. Ylitalo K, Syväne M, Salonen R, Nuotio I, Taskinen MR, Salonen JT. Carotid artery intima-media thickness in Finnish families with familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2002 May; 162(1):171-8.
109. Liu ML, Ylitalo K, Nuotio I, Salonen R, Salonen JT, Taskinen MR. Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Stroke.* 2002 May; 33(5):1255-60.
110. Ter Avest E, Holewijn S, van Tits LJ, de Wit HM, Stalenhoef AF, de Graaf J. Endothelial function in familial combined hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest.* 2007 May; 37(5):381-9.
111. Karásek D, Vaverková H, Hutýra M, Halenka M, Novotný D, Budíková M, et al. [Endothelial dysfunction in a family with familial combined hyperlipidemia]. *Vnitr Lek.* 2003 Aug; 49(8):623-9. (acceso a abstract: <https://www.ncbi.nih.gov/pubmed/14518086>)
112. Karásek D, Vaverková H, Halenka M, Budíková M, Novoty D. Brachial endothelial function in subjects with familial combined hyperlipidemia and its relationships to carotid artery intima-media thickness. *Int Angiol.* 2006 Dec; 25(4):418-26.

113. Karásek D, Vaverková H, Halenka M, Slavík L, Novotný D. Endothelial haemostatic markers in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Thromb Res.* 2009; 123(3):466-75.
114. ter Avest E, Holewijn S, Bredie SJ, van Tits LJ, Stalenhoef AF, de Graaf J. Pulse wave velocity in familial combined hyperlipidemia. *Am J Hypertens.* 2007 Mar; 20(3):263-9.
115. ter Avest E, Holewijn S, Bredie SJ, Stalenhoef AF, de Graaf J. Remnant particles are the major determinant of an increased intima media thickness in patients with familial combined hyperlipidemia (FCH). *Atherosclerosis.* 2007 Mar; 191(1):220-6.
116. Halenka M, Vaverkova H, Hutyra M, Karasek D, Slavik L, Novotny D, et al. Detection of early atherosclerosis using the ultrasound parameter of the intima-media thickness of the common carotid artery in families with familial combined hyperlipidemia. *Int Angiol.* 2004 Sep; 23(3):230-7.
117. de Graaf J, van der Vleuten GM, ter Avest E, Dallinga-Thie GM, Stalenhoef AF. High plasma level of remnant-like particles cholesterol in familial combined hyperlipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Apr; 92(4):1269-75
118. Jarauta E, Mateo-Gallego R, Gilabert R, Plana N, Junyent M, de Groot E, et al. Carotid atherosclerosis and lipoprotein particle subclasses in familial hypercholesterolaemia and familial combined hyperlipidaemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012 Jul; 22(7):591-7.
119. Pitkänen OP, Nuutila P, Raitakari OT, Porkka K, Iida H, Nuotio I, et al. Coronary flow reserve in young men with familial combined hyperlipidemia. *Circulation.* 1999 Apr 6; 99(13):1678-84.
120. Martínez-Hervás S, Real JT, Priego A, Sanz J, Martín JM, Carmena R, et al. [Familial combined hyperlipidemia, metabolic syndrome and cardiovascular disease]. *Rev Esp Cardiol.* 2006 Nov; 59(11):1195-8.
121. Keulen ET, Voors-Pette C, de Bruin TW. Familial dyslipidemic hypertension syndrome: Familial combined hyperlipidemia, and the role of abdominal fat mass. *Am J Hypertens* 2001; 14: 357 – 36
122. Shoulders CC, Johnes EL, Naoumona RP. Genetics of familial combined hyperlipidemia and risk of coronary heart disease. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 149 – 160.

123. Lee JC, Weissglas-Volkov D, Kyttälä M, Sinsheimer JS, Jokiaho A, de Bruin TW, et al. USF1 contributes to high serum lipid levels in Dutch FCHL families and U.S. whites with coronary artery disease . *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Oct;27(10):2222-7.
124. Ascaso JF, Lorente R, Merchante A, Real JT, Priego A, Carmena R. Insulin resistance in patients with familial combined hyperlipidemia and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1484 – 1487.
125. Cabré A, Lázaro I, Cofán M, Jarauta E, Plana N, Garcia-Otín AL, et al. FABP4 plasma levels are increased in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2010 May;51(5):1173-8.
126. Hsu BG, Chen YC, Lee RP, Lee CC, Lee CJ, Wang JH. Fasting serum level of fatty-acid-binding protein 4 positively correlates with metabolic syndrome in patients with coronary artery disease. *Circ J* 2010; 74: 327 – 331.
127. Kristiansson K, Ilveskoski E, Lehtimäki T, Peltonen L, Perola M, Karhunen PJ. Association analysis of allelic variants of USF1 in coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 May; 28(5):983-9.
128. Collings A, Höyssä S, Fan M, Kähönen M, Hutri-Kähönen N, Marniemi J, et al. Allelic variants of upstream transcription factor 1 associate with carotid artery intima-media thickness: the Cardiovascular Risk in Young Finns study. *Circ J.* 2008 Jul; 72(7):1158-64.
129. Reiner AP, Carlson CS, Jenny NS, Durda JP, Siscovick DS, Nickerson DA, et al. USF1 gene variants, cardiovascular risk, and mortality in European Americans: analysis of two US cohort studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Dec; 27(12):2736-42.

#### ATEROSCLEROSIS Y INFLAMACIÓN.POTENCIAL CONTRIBUCIÓN EN HFC.

130. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.
131. Rader DJ. Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med.* 2000; 343:1179–1182.
132. Moore, K.J., Tabas, I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell* (2011); 145, 341–355

133. Kwon, G.P., Schroeder, J.L., Amar, M.J., Remaley, A.T. & Balaban, R.S. Contribution of macromolecular structure to the retention of low-density lipoprotein at arterial branch points. *Circulation* (2008); 117, 2919–2927
134. Cybulsky MI, Gimbrone Jr MA. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991; 251: 788 – 791.
135. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, Libby P. Inducible expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) by vascular smooth muscle cells in vitro and within rabbit atheroma. *Am J Pathol* 1993; 143: 1551 – 1559.
136. Hansson, G.K., Hermansson, A. The immune system in atherosclerosis. *Nat. Immunol.* (2011); 12: 204–212.
137. Weber, C., Zernecke, A., Libby, P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat. Rev. Immunol.* (2008); 8, 802–815
138. Koenen, R.R., Weber, C. Therapeutic targeting of chemokine interactions in atherosclerosis. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2010); 9, 141–153
139. Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol Cell.* 1998 Aug; 2(2):275-81.
140. Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in *CCR2*<sup>-/-</sup> mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 1998; 394: 894 – 897
141. Clinton S, Underwood R, Sherman M, Kufe D, Libby P. Macrophage-colony stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol* 1992; 140: 301-316.
142. Rosenfeld M, Ylä-Herttuala S, Lipton B, Ord V, Witztum J, Steinberg D. Macrophage colony-stimulating factor mRNA and protein in atherosclerotic lesions of rabbits and humans. *Am J Pathol* 1992; 140: 291-300.
143. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-1143.



144. Mestas J, Ley K. Monocyte-endothelial cell interactions in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2008; 18: 228-232.
145. Rader DJ, Daugherty A. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. *Nature* 2008; 451: 904-913.
146. Paul VS, Paul CM, Kuruvilla S. Quantification of Various Inflammatory Cells in Advanced Atherosclerotic Plaques. *J Clin Diagn Res.* 2016 May; 10(5):EC35-8.
147. Kume T, Okura H, Yamada R, Kawamoto T, Watanabe N, Neishi Y, et al. Frequency and spatial distribution of thin-cap fibroatheroma assessed by 3-vessel intravascular ultrasound and optical coherence tomography: an ex vivo validation and an initial in vivo feasibility study. *Circ J.* 2009 Jun; 73(6):1086-91.
148. Kashiwagi M, Tanaka A, Kitabata H, Tsujioka H, Matsumoto H, Arita Y, et al. Relationship between coronary arterial remodeling, fibrous cap thickness and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with acute coronary syndrome. *Circ J.* 2009 Jul; 73(7):1291-5.
149. Goldstein, JL and Brown, MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29: 431–438.
150. Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet.* 2007 Dec 1;370(9602):1829-39.
151. Horton, JD, Cohen, JC, and Hobbs, HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res.* 2009; 50: S172–S177
152. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Fulcher J, O'Connell R, Voysey M, Emberson J, Blackwell L, Mihaylova B, et al. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet.* 2015 Apr 11;385(9976):1397-405.
153. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al; FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 May 4; 376(18):1713-1722.

154. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al ; IMPROVE-IT Investigators. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015 Jun 18; 372(25):2387-97.
155. Berneis KK, Krauss RM Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* (2002) 43, 1363-1379
156. Campos H, Blijlevens E, McNamara JR, Ordovas JM, Posner BM, Wilson PW, et al. Low density lipoprotein particle size distribution: results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb* (1992) 12,1410-1419
157. Krauss R & Burke D Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* (1982) 23, 97-104
158. Austin M, Breslow J, Hennekens C, Buring J, Willett W, Krauss R Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* (1988) 260, 1917-1921
159. Berneis K, Rizzo M LDL size: does it matter? *Swiss Med Week* (2004) 134, 720-724
160. Rizzo M, Berneis K Should we measure routinely the LDL peak particle size? *Int J Cardiol* (2006) 107, 166-170
161. Arsenault BJ, Lemieux I, Després JP, Wareham NJ, Luben R, Kastelein JJP, et al . Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur Heart J* (2007) 28, 2770-2777
162. Capell WH, Zambon A, Austin MA, Brunzell JD, Hokanson JE Compositional Differences of LDL Particles in Normal Subjects With LDL Subclass Phenotype A and LDL Subclass Phenotype B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (1996) 16, 1040-1046
163. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, McNeely MJ, Edwards KL, Curb JD, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. *Am J Cardiol* (2000) 86, 412-416
164. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men Prospective results from the Québec Cardiovascular Study. *Circulation* (1997) 95, 69–75

165. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter; and risk of myocardial infarction. *JAMA* (1996) 276, 882-888
166. Maeda S, Nakanishi S, Yoneda M, Awaya T, Yamane K, Hirano T, et al. Associations between small dense LDL, HDL subfractions (HDL2, HDL3) and risk of atherosclerosis in Japanese-Americans. *J Atheroscler Thromb*. 2012; 19(5):444-52.
167. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Mauriege P, Bernard PM, Despres JP, Lamarche B Low-Density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2005) 25, 553-559
168. DeJager S, Bruckert E, Chapman MJ Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominate in combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* (1993) 34, 295-308
169. Tribble DL, Holl LG, Wood PD, Krauss RM Variations in oxidative susceptibility among six low density subfractions of differing density and particle size. *Arteriosclerosis* (1992) 93, 189-199
170. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D Oxidized LDL and malondialdehyde- modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* (1998) 98, 1487-1494
171. Chang CJ, Hsieh RH, Wang HF, Chin MY, Huang SY. Effects of glucose and alpha-tocopherol on low- density lipoprotein oxidation and glycation. *Ann N Y Acad Sci* (2005) 1042, 294-302.
172. Scheffer PG, Teerlink T & Heine RJ. Clinical significance of the physicochemical properties of LDL in type 2 diabetes. *Diabetologia* (2005) 48, 808-816
173. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, Walsh MT, Levy E, Ngu'yen T, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem* (1994) 269, 511-519
174. Soran H, Durrington PN Susceptibility of LDL and its subfractions to glycation. *Curr Opin Lipidol* (2011); 22, 254-261

175. Rabbani N, Godfrey L, Xue M, Shaheen F, Geoffrion M, Milne R ,et al. Glycation of LDL by methylglyoxal increases arterial atherogenicity: a possible contributor to increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *Diabetes* (2011) 60, 1973-1980
176. Avogaro P, Bittolo-Bon G, Cazzolato G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. *Atherosclerosis* 1988; 8:79–87.
177. Cazzolato G, Avogaro P, Bittolo-Bom G. Characterization of a more electronegatively charged LDL subfraction by ion exchange HPLC. *Free Radic Biol Med* 1991; 11:247–53.
178. Chang YH, Abdalla DSP, Sevanian A. Characterization of cholesterol oxidation products formed by oxidative modification of low density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 1997; 2:202–14.
179. Nègre-Salvayre A, Augé N, Camaré C, Bacchetti T, Ferretti G, Salvayre R. Dual signaling evoked by oxidized LDLs in vascular cells. *Free Radic Biol Med*. 2017 May;106:118-133.
180. D. Li, J. L. Mehta, “Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells,” *Circulation*, vol. 101, 2000; 25: 2889– 2895
181. D. Li, H. Chen, F. Romeo, T. Sawamura, T. Saldeen, J. L. Mehta, “Statins modulate oxidized low-density lipoprotein mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1,” *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2002 ; 302, no. 2: 601–605.
182. Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Campagnola M, et al. The binding of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells through an increased production of superoxide. *J Biol Chem*. 2001 Apr 27;276(17):13750-5.
183. D. Li, L. Liu, H. Chen, T. Sawamura, S. Ranganathan, J. L. Mehta, “LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells”. *Circulation*, (2003); 107, no. 4: 612–617.
184. G. V. Sangle, R. Zhao, G. X. Shen, “Transmembrane signaling pathway mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 in

- vascular endothelial cells,” *American Journal of Physiology*, 2008; 295, no. 5: E1243–E1254,
185. Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Morimoto M, Hayashida K, et al. Oxidized LDL modulates Bax/Bcl-2 through the lectinlike Ox-LDL receptor-1 in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Jun;21(6):955-60
  186. J. Yu, Y. Li, M. Li, Z. Qu, Q. Ruan, “Oxidized low density lipoprotein-induced transdifferentiation of bone marrow derived smooth muscle-like cells into foam-like cells in vitro,” *International Journal of Experimental Pathology*, 2010; 91, no. 1: 24–33,
  187. Schaeffer DF, Riazy M, Parhar KS, Chen JH, Duronio V, Sawamura T, et al. LOX-1 augments oxLDL uptake by lysoPC-stimulated murine macrophages but is not required for oxLDL clearance from plasma. *J Lipid Res*. 2009 Aug; 50(8):1676-84.
  188. Nickel T, Schmauss D, Hanssen H, Sicic Z, Krebs B, Jankl S, et al. oxLDL uptake by dendritic cells induces upregulation of scavenger-receptors, maturation and differentiation. *Atherosclerosis*. 2009 Aug;205(2):442-50.
  189. Daub K, Seizer P, Stellos K, Krämer BF, Bigalke B, Schaller M, et al. Oxidized LDL-activated platelets induce vascular inflammation. *Semin Thromb Hemost*. 2010 Mar; 36(2):146-56.
  190. M. Kakutani, T. Masaki, T. Sawamura, “A platelet endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized lowdensity lipoprotein receptor-1,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000.vol. 97, no. 1, pp. 360–364.
  191. Imanishi T, Hano T, Sawamura T, Nishio I: Oxidized low-density lipoprotein induces endothelial progenitor cell senescence, leading to cellular dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004, 31(7):407–413.
  192. Chu L, Hao H, Luo M, Huang Y, Chen Z, Lu T, et al. Ox-LDL modifies the behaviour of bone marrow stem cells and impairs their endothelial differentiation via inhibition of Akt phosphorylation. *J Cell Mol Med* 2011, 15(2):423–432.
  193. Lu T, Parthasarathy S, Hao H, Luo M, Ahmed S, Zhu J, et al . Reactive oxygen species mediate oxidized low-density lipoprotein-induced inhibition of oct-4 expression and endothelial differentiation of bone marrow stem cells. *Antioxid Redox Signal*. 2010 Dec 15;13(12):1845-56.

194. Imanishi T, Hano T, Matsuo Y, Nishio I: Oxidized low-density lipoprotein inhibits vascular endothelial growth factor-induced endothelial progenitor cell differentiation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003, 30(9):665–670.
195. Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, et al. Circulating oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Oct;20(10):2243-7.
196. Tsimikas S, Bergmark C, Beyer RW, Patel R, Pattison J, Miller E, et al. Temporal increases in plasma markers of oxidized low-density lipoprotein strongly reflect the presence of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Feb 5;41(3):360-70.
197. Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Otal C, Franco M, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. Density distribution of electronegative LDL in normolipemic and hyperlipemic subjects. *J Lipid Res.* 2002 May;43(5):699-705.
198. Sánchez-Quesada JL, Camacho M, Antón R, Benítez S, Vila L, Ordóñez-Llanos J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2003 Feb;166(2):261-70.
199. Benítez S, Ordóñez-Llanos J, Franco M, Marín C, Paz E, López-Miranda J, et al. Effect of simvastatin in familial hypercholesterolemia on the affinity of electronegative low-density lipoprotein subfractions to the low-density lipoprotein receptor. *Am J Cardiol.* 2004 Feb 15; 93(4):414-20.
200. Benítez S, Pérez A, Sánchez-Quesada JL, Wagner AM, Rigla M, Arcelus R, et al. Electronegative low-density lipoprotein subfraction from type 2 diabetic subjects is proatherogenic and unrelated to glycemic control. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007 Jan; 23(1):26-34.
201. Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Ordóñez-Llanos J. Electronegative low-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15:329–35.
202. Witztum JL, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? *TCM* 2001; 11(3):93–102.
203. Camont L, Chapman MJ, Kontush A: Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends Mol Med* 2011; 17: 594–603.
204. Castro, G. R., C. J. Fielding.. Early incorporation of cell derived cholesterol into pre-beta-migrating high-density lipoprotein. *Biochemistry.* 1988; 27 : 25 – 29

205. Duffy, D., D. J. Rader. Emerging therapies targeting high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport. *Circulation* 2006; 113 : 1140 – 1150
206. Barter , P. J. , S. Nicholls , K. A. Rye , G. M. Anantharamaiah , M. Navab , and A. M. Fogelman .. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ. Res.* 2004; 95: 764 – 772 .
207. Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemoattractant protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1991 Dec;88(6):2039-46.
208. Mackness, M. I., P. N. Durrington , B. Mackness. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* . 2004; 4: 211 – 217.
209. Garner , B. , P. K. Witting , A. R. Waldeck , J. K. Christison , M. Raftery , and R. Stocker. Oxidation of high density lipoproteins. I. Formation of methionine sulfoxide in apolipoproteins AI and AII is an early event that accompanies lipid peroxidation and can be enhanced by alpha-tocopherol. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 6080 – 6087 .
210. Zerrad-Saadi , A. , P. Therond , S. Chantepie , M. Couturier , K. A. Rye , M. J. Chapman, et al. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29 : 2169 – 2175.
211. Mineo, C., H. Deguchi, J. H. Griffin, P. W. Shaul. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ. Res.* 2006; 98 :1352 – 1364
212. Bissoendial , R. J. , G. K. Hovingh , J. H. Levels , P. G. Lerch , I. Andresen , M. R. Hayden , et al . Restoration of endothelial function by increasing high-density lipoprotein in subjects with isolated low high-density lipoprotein. *Circulation.* 2003; 107 : 2944 – 2948
213. Tso, C. , G. Martinic , W. H. Fan , C. Rogers , K. A. Rye , and P. J. Barter .High-density lipoproteins enhance progenitor mediated endothelium repair in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 1144 – 1149.
214. Sumi M., Sata M., Miura S , Rye K.A. ,Toya N.,Kanaoka Y. , et al. Reconstituted high-density lipoprotein stimulates differentiation of endothelial progenitor cells and

- enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27 : 813 – 818
215. Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier EL, Avagyan S, Siry RL, Han S, et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science.* 2010 Jun 25; 328(5986):1689-93.
  216. Terasaka N, Wang N, Yvan-Charvet L, Tall AR. High-density lipoprotein protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by promoting efflux of 7-ketocholesterol via ABCG1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Sep 18; 104(38):15093-8.
  217. Suc, I., I. Escargueil-Blanc , M. Troly , R. Salvayre , and A. Negre-Salvayre . HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 2158 – 2166.
  218. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2007; 357: 1301–1310.
  219. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989; 79: 8–15.
  220. Gordon , D. J. , J. Knoke , J. L. Probstfield , R. Superko , and H. A. Tyroler .High-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease in hypercholesterolemic men: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. *Circulation* 1986; .74 : 1217 – 1225
  221. Miller , M. , A. Seidler , P. O. Kwiterovich , T. A. Pearson . Long-term predictors of subsequent cardiovascular events with coronary artery disease and ‘desirable’ levels of plasma total cholesterol. *Circulation* . 1992; 86: 1165 – 1170 .
  222. Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA.* 2009 Nov 11; 302(18):1993-2000.
  223. Badimon, J. J, L. Badimon ,V. Fuster. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J. Clin. Invest.* 1990; 85: 1234 – 1241.



224. Nicholls , S. J. , B. Cutri , S. G. Worthley , P. Kee , K. A. Rye , S. Bao ,et al .  
Impact of short-term administration of high density lipoproteins and atorvastatin on atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2416 – 2421 .
225. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, et al.  
Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003 Nov 5;290(17):2292-300.
226. Tardif JC, Grégoire J, L'Allier PL, Ibrahim R, Lespérance J, Heinson TM, et al.  
Effect of rHDL on Atherosclerosis-Safety and Efficacy (ERASE) Investigators. Effects of reconstituted high-density lipoprotein infusions on coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007 Apr 18; 297(15):1675-82.
227. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, et al; ILLUMINATE Investigators. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med.* 2007 Nov 22; 357(21):2109-22.
228. Boden , W. E. , J. L. Probstfield , T. Anderson , B. R. Chaitman , P. Desvignes-Nickens , K. Koprowicz ,et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 : 2255 – 2267 .
229. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, et al; dal-OUTCOMES Investigators. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012 Nov 29; 367(22):2089-99.
230. Poynten , A. M. , S. K. Gan , A. D. Kriketos , A. O'Sullivan, J. J. Kelly, B. A. Ellis ,et al. Nicotinic acid-induced insulin resistance is related to increased circulating fatty acids and fat oxidation but not muscle lipid content. *Metabolism* 2003. 52: 699 – 704.
231. Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih DM, et al.  
Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest.* 2011 Jul; 121(7):2693-708.
232. Smith JD: Dysfunctional HDL as a diagnostic and therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 151–155
233. Ansell BJ, Fonarow GC, Fogelman AM: The paradox of dysfunctional high-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 427–434.

234. Norata GD, Pirillo A, Catapano AL: Modified HDL: biological and physiopathological consequences. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 16: 371–386.
235. Pirillo A, Uboldi P, Bolego C, Kuhn H, Catapano AL: The 15-lipoxygenase-modified high density lipoproteins 3 fail to inhibit the TNF alpha- induced inflammatory response in human endothelial cells. *J Immunol* 2008; 181: 2821–2830.
236. Pirillo A, Uboldi P, Kuhn H, Catapano AL: 15-Lipoxygenase-mediated modification of high-density lipoproteins impairs SR-BI- and ABCA1-dependent cholesterol efflux from macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761: 292–300.
237. Pirillo A, Uboldi P, Ferri N, Corsini A, Kuhn H, Catapano AL: Upregulation of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) expression in human endothelial cells by modified high density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 428: 230–233
238. Kontush A, Chapman MJ: Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 342–374.
239. Lagos KG, Filippatos TD, Tsimihodimos V, Gazi IF, Rizos C, Tselepis AD, et al. Alterations in the high density lipoprotein phenotype and HDL-associated enzymes in subjects with metabolic syndrome. *Lipids* 2009; 44: 9–16.
240. Nobecourt E, Jacqueminet S, Hansel B, Chantepie S, Grimaldi A, Chapman MJ, et al. Defective antioxidative activity of small dense HDL3 particles in type 2 diabetes: relationship to elevated oxidative stress and hyperglycaemia. *Diabetologia* 2005; 48: 529–538.
241. Bellanger N, Orsoni A, Julia Z, Fournier N, Frisdal E, Duchene E, et al. Atheroprotective reverse cholesterol transport pathway is defective in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 1675–1681.
242. Ottestad IO, Halvorsen B, Balstad TR, Otterdal K, Borge GI, Brosstad F, et al. Triglyceride-rich HDL3 from patients with familial hypercholesterolemia are less able to inhibit cytokine release or to promote cholesterol efflux. *J Nutr* 2006; 136: 877–881.
243. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2014 Dec 18; 371(25):2383-93.

244. Nordestgaard, BG and Zilversmit, DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res.* 1988; 29: 1491–1500
245. Nordestgaard, BG, Tybjaerg-Hansen, A, and Lewis, B. Influx in vivo of low density, intermediate density, and very low density lipoproteins into aortic intimas of genetically hyperlipidemic rabbits. Roles of plasma concentrations, extent of aortic lesion, and lipoprotein particle size as determinants. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12: 6–18.
246. Nordestgaard, BG, Wootton, R, and Lewis, B. Selective retention of VLDL, IDL, and LDL in the arterial intima of genetically hyperlipidemic rabbits in vivo. Molecular size as a determinant of fractional loss from the intima-inner media. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15: 534–542.
247. Nordestgaard, BG, Benn, M, Schnohr, P, and Tybjaerg-Hansen, A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA.* 2007; 298: 299–308.
248. Bansal, S, Buring, JE, Rifai, N, Mora, S, Sacks, FM, and Ridker, PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA.* 2007; 298: 309–316.
249. Freiberg, JJ, Tybjaerg-Hansen, A, Jensen, JS, and Nordestgaard, BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA.* 2008; 300: 2142–2152
250. Hokanson, JE, Austin, MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk.* 1996; 3: 213–219
251. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation.* 2007 Jan 30; 115(4):450-8.
252. Varbo, A, Benn, M, Tybjaerg-Hansen, A, Jørgensen, AB, Frikke-Schmidt, R, Nordestgaard, BG. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 427–436
253. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, et al; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Triglyceride-rich lipoproteins and

- high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J*. 2011 Jun;32(11):1345-61.
254. Varbo, A, Benn, M, Nordestgaard, BG. Remnant cholesterol as a cause of ischemic heart disease: evidence, definition, measurement, atherogenicity, high risk patients, and present and future treatment. *Pharmacol Ther*. 2014; 141: 358–367.
255. Thomsen, M, Varbo, A, Tybjaerg-Hansen, A, and Nordestgaard, BG. Low nonfasting triglycerides and reduced all-cause mortality: a mendelian randomization study. *Clin Chem*. 2014; 60: 737–746
256. Varbo, A, Benn, M, Tybjaerg-Hansen, A, and Nordestgaard, BG. Elevated remnant cholesterol causes both low-grade inflammation and ischemic heart disease, whereas elevated low-density lipoprotein cholesterol causes ischemic heart disease without inflammation. *Circulation*. 2013; 128: 1298–1309
257. Haim M, Benderly M, Brunner D, Behar S, Graff E, Reicher-Reiss H, et al. Elevated serum triglyceride levels and long-term mortality in patients with coronary heart disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Registry. *Circulation*. 1999 Aug 3;100(5):475-82.
258. Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2000 Jul 4;102(1):21-7.
259. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Tanne D, Boyko V, Behar S. Bezafibrate for the secondary prevention of myocardial infarction in patients with metabolic syndrome. *Arch Intern Med*. 2005 May 23; 165(10):1154-60.
260. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*. 1999 Aug 5; 341(6):410-8.
261. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1987 Nov 12; 317(20):1237-45.

262. Tenkanen L, Mänttari M, Kovanen PT, Virkkunen H, Manninen V. Gemfibrozil in the treatment of dyslipidemia: an 18-year mortality follow-up of the Helsinki Heart Study. *Arch Intern Med.* 2006 Apr 10;166(7):743-8.
263. Jun M, Foote C, Lv J, Neal B, Patel A, Nicholls SJ, et al. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010 May 29; 375(9729):1875-84.
264. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol.* 2013 Oct; 13(10):709-21.
265. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:165-97
266. von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2007 Jan 5; 100(1):27-40.
267. Morrow DA, Braunwald E. Future of biomarkers in acute coronary syndromes: moving toward a multimarker strategy. *Circulation.* 2003; 108:250–252.
268. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115–126.
269. Panteghini M. Role and importance of biochemical markers in clinical cardiology. *Eur Heart J.* 2004; 25:1187–1196.
270. Marian AJ, Nambi V. Biomarkers of cardiac disease. *Expert Rev Mol Diagn.* 2004;4:805–820
271. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H2031–H2041
272. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003; 111:1805–1812.
273. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999; 340:448–454.

274. Okemefuna AI, Nan R, Miller A, Gor J, Perkins SJ. Complement factor H binds at two independent sites to C-reactive protein in acute phase concentrations. *J Biol Chem.* 2010;285:1053–1065.
275. Peisajovich A, Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein at the interface between innate immunity and inflammation. *Expert Rev Clin Immunol.* 2008; 4:379–390.
276. de Beer FC, Soutar AK, Baltz ML, Trayner IM, Feinstein A, Pepys MB. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. *J Exp Med.* 1982; 156:230–242.
277. Jin C, Lu L, Zhang RY, Zhang Q, Ding FH, Chen QJ, et al. Association of serum glycated albumin, C-reactive protein and ICAM-1 levels with diffuse coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta.* 2009; 408:45–49.
278. Ridker PM. C-reactive protein: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease. *Clin Chem.* 2009; 55:209–215.
279. Otake H, Shite J, Shinke T, Watanabe S, Tanino Y, Ogasawara D, et al. Relation between plasma adiponectin, high-sensitivity C-reactive protein, and coronary plaque components in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol.* 2008; 101:1–7.
280. Scirica BM, Morrow DA, Cannon CP, de Lemos JA, Murphy S, Sabatine MS, et al. Clinical application of C-reactive protein across the spectrum of acute coronary syndromes. *Clin Chem.* 2007; 53:1800–1807.
281. Kao PC, Shiesh SC, Wu TJ. Serum C-reactive protein as a marker for wellness assessment. *Ann Clin Lab Sci.* 2006; 36:163–169.
282. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation.* 1999; 99:237–242.
283. Currie CJ, Poole CD, Conway P. Evaluation of the association between the first observation and the longitudinal change in C-reactive protein, and all-cause mortality. *Heart.* 2008;94:457–462

284. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002; 347:1557–1565.
285. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2004; 350:1387–1397.
286. Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA.* 2005; 294:326–333.
287. Genest J, McPherson R, Frohlich J, Anderson T, Campbell N, Carpentier A, et al. 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. *Can J Cardiol.* 2009 Oct; 25(10):567-79.
288. NACB LMPG Committee Members, Myers GL, Christenson RH, Cushman M, Ballantyne CM, Cooper GR, Pfeiffer CM, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice guidelines: emerging biomarkers for primary prevention of cardiovascular disease. *Clin Chem.* 2009 Feb; 55(2):378-84.
289. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Dec 14; 56(25):e50-103.
290. Maseri A. Inflammation, atherosclerosis, and ischemic events - exploring the hidden side of the moon. *N Engl J Med.* 1997; 336:1014–1016.
291. Kinlay S. Low-density lipoprotein-dependent and -independent effects of cholesterol-lowering therapies on C-reactive protein: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:2003–9.
292. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, et al. Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) Investigators. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005 Jan 6; 352(1):29-38.

293. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, et al. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med*. 2005 Jan 6; 352(1):20-8.
294. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1998 Sep 1;98(9):839-44.
295. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772–783..
296. Sabio G, Das M, Mora A, Zhang Z, Jun JY, Ko HJ, et al. A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science*. 2008 Dec 5;322(5907):1539-43.
297. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135–1143.
298. Zhou X, Hansson GK. Detection of B cells and proinflammatory cytokines in atherosclerotic plaques of hypercholesterolaemic apolipoprotein E knockout mice. *Scand J Immunol* 1999; 50: 25–30.
299. Recinos A 3rd, LeJeune WS, Sun H, Lee CY, Tieu BC, Lu M, et al. Angiotensin II induces IL-6 expression and the Jak-STAT3 pathway in aortic adventitia of LDL receptor-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2007 Sep; 194(1):125-33.
300. Wassmann S, Stumpf M, Strehlow K, Schmid A, Schieffer B, Böhm M, et al. Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin II type 1 receptor. *Circ Res*. 2004 Mar 5; 94(4):534-41.
301. Keidar S, Heinrich R, Kaplan M, Hayek T, Aviram M. Angiotensin II administration to atherosclerotic mice increases macrophage uptake of oxidized LDL: a possible role for interleukin-6. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Sep;21(9):1464-9.
302. Takeda N, Manabe I, Shindo T, Iwata H, Iimuro S, Kagechika H, et al. Synthetic retinoid Am80 reduces scavenger receptor expression and atherosclerosis



- in mice by inhibiting IL-6. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 May;26(5):1177-83.
303. Huber SA, Sakkinen P, Conze D, Hardin N, Tracy R. Interleukin-6 exacerbates early atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Oct;19(10):2364-7.
304. Schieffer B, Selle T, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Grote K, Tietge UJ, et al. Impact of interleukin-6 on plaque development and morphology in experimental atherosclerosis. *Circulation.* 2004 Nov 30; 110(22):3493-500.
305. Elhage R, Clamens S, Besnard S, Mallat Z, Tedgui A, Arnal J, et al. Involvement of interleukin-6 in atherosclerosis but not in the prevention of fatty streak formation by 17beta-estradiol in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis.* 2001 Jun;156(2):315-20.
306. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.* 1998 Jan 15; 101(2):311-20.
307. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res.* 2001 Jul;9(7):414-7.
308. Al-Khalili L, Bouzakri K, Glund S, Lönnqvist F, Koistinen HA, Krook A. Signaling specificity of interleukin-6 action on glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Mol Endocrinol.* 2006 Dec; 20(12):3364-75.
309. Kallen KJ. The role of transsignalling via the agonistic soluble IL-6 receptor in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1592: 323–343
310. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation.* 2000; 101:1767–1772.
311. Koenig W, Khuseyinova N, Baumert J, Thorand B, Loewel H, Chambless L, et al. Increased concentrations of C-reactive protein and IL-6 but not IL-18 are independently associated with incident coronary events in middle-aged men and women: results from the

- MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:2745–51.
312. Hartford M, Wiklund O, Mattsson Hulten L, Persson A, Karlsson T, Herlitz J, et al. C-reactive protein, interleukin-6, secretory phospholipase A2 group IIA and intercellular adhesion molecule-1 in the prediction of late outcome events after acute coronary syndromes. *J Intern Med.* 2007; 262:526–36.
313. Miwa K, Tanaka M, Okazaki S, Furukado S, Sakaguchi M, Mochizuki H, et al. Association between interleukin-6 levels and first-ever cerebrovascular events in patients with vascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33:400–5.
314. Okazaki S, Sakaguchi M, Miwa K, Furukado S, Yamagami H, Yagita Y, et al. Association of interleukin-6 with the progression of carotid atherosclerosis: a 9-year follow-up study. *Stroke.* 2014 Oct; 45(10):2924-9.
315. Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. *JAMA* 2001; 286: 2107-2113
316. Zhang B, Wang J, Xu Y, Zhou X, Liu J, Xu J, et al. Correlative association of interleukin-6 with intima media thickness: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Mar 15; 8(3):4731-43.
317. Remick GD. Interleukin-8. *Crit Care Med* 2005; 33:s646–s647.
318. DeForge LE, Fantone JC, Kenney JS, Remick DG. Oxygen radical scavengers selectively inhibit interleukin 8 production in human whole blood. *J Clin Invest* 1992; 90:2123–2129.
319. DeForge LE, Preston AM, Takeuchi E, Kenney J, Boxer LA, Remick DG. Regulation of interleukin 8 gene expression by oxidant stress. *J Biol Chem* 1993; 268:25568–25576.
320. Rus HG, Vlaicu R, Niculescu F. Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall. *Atherosclerosis* 1996; 127:263–271.
321. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA Jr, et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999 Apr 22;398(6729):718-23.

322. Yue TL, Wang X, Sung CP, Olson B, McKenna PJ, Gu JL, et al. Interleukin-8. A mitogen and chemoattractant for vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1994 Jul; 75(1):1-7.
323. Moreau M, Brocheriou I, Petit L, Ninio E, Chapman MJ, Rouis M. Interleukin-8 mediates downregulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in cholesterol-loaded human macrophages: relevance to stability of atherosclerotic plaque. *Circulation*. 1999 Jan 26;99(3):420-6.
324. Simonini A, Moscucci M, Muller DW, Bates ER, Pagani FD, Burdick MD, et al. IL-8 is an angiogenic factor in human coronary atherectomy tissue. *Circulation*. 2000 Apr 4;101(13):1519-26.
325. Apostolopoulos J, Davenport P, Tipping PG. Interleukin-8 production by macrophages from atheromatous plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:1007–1012.
326. Geisel J, Jödden V, Obeid R, Knapp JP, Bodis M, Herrmann W. Stimulatory effect of homocysteine on interleukin-8 expression in human endothelial cells. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:1045–1048.
327. Ryoo SW, Kim DU, Won M, Chung KS, Jang YJ, Oh GT, et al. Native LDL induces interleukin-8 expression via H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, p38 Kinase, and activator protein-1 in human aortic smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*. 2004 Apr 1;62(1):185-93.
328. Dje N'Guessan P, Riediger F, Vardarova K, Scharf S, Eitel J, Opitz B, et al. Statins control oxidized LDL-mediated histone modifications and gene expression in cultured human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 Mar;29(3):380-6.
329. Inoue T, Komoda H, Nonaka M, Kameda M, Uchida T, Node K. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2008; 124:319–325.
330. Herder C, Baumert J, Thorand B, Martin S, Löwel H, Kolb H, et al. Chemokines and incident coronary heart disease: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Sep; 26(9):2147-52.

331. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez M, Ferrer J. Prognostic value of interleukin-8 as a predictor of heart failure in patients with myocardial infarction and percutaneous intervention. *Int J Cardiol* 2006; 111:158–160.
332. Kanda T, Hirao Y, Oshima S, Yuasa K, Taniguchi K, Nagai R, et al. Interleukin-8 as a sensitive marker of unstable coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1996 Feb 1; 77(4):304-7.
333. Zhou RH, Shi Q, Gao HQ, Shen BJ. Changes in serum interleukin-8 and interleukin-12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *J Atheroscler Thromb* 2001; 8:30–32.
334. Kim CS, Park HS, Kawada T, Kim JH, Lim D, Hubbard NE, et al. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Sep; 30(9):1347-55.
335. D.M. Kingsley, The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms, *Genes Dev*. 8 (1994) 133-146.
336. A. Weiss, L. Attisano. The TGF beta superfamily signaling pathway, *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol*. 2 (2013) 47-63.
337. I. Toma, T.A. McCaffrey, Transforming growth factor-beta and atherosclerosis: interwoven atherogenic and atheroprotective aspects, *Cell Tissue Res*. 347 (2012) 155-175.
338. N.N. Singh, D.P. Ramji, The role of transforming growth factor-beta in atherosclerosis, *Cytokine Growth Factor Rev*. 17 (2006) 487-499.
339. M. Bujak, N.G. Frangogiannis, The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling, *Cardiovasc Res*. 74 (2007) 184-195.
340. D.J. Grainger, TGF-beta and atherosclerosis in man, *Cardiovasc Res*. 74 (2007) 213-222.
341. Grainger DJ, Mosedale DE, Metcalfe JC, Böttinger EP. Dietary fat and reduced levels of TGF beta1 act synergistically to promote activation of the vascular endothelium and formation of lipid lesions. *J Cell Sci*. 2000 Jul;113 ( Pt 13):2355-61

342. Takeya M, Yoshimura T, Leonard EJ, Takahashi K. Detection of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic lesions by an anti-monocyte chemoattractant protein-1 monoclonal antibody. *Hum Pathol.* 1993 May; 24(5):534-9.
343. Ylä-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Särkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Jun 15; 88(12):5252-6.
344. Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res* 2004; 95: 858-866
345. Aukrust, P., Berge, R. K., Ueland, T., Aaser, E., Damas, J. K., Wikeby, L., et al. Interaction between chemokines and oxidative stress: possible pathogenic role in acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* (2001) 37, 485–491
346. Economou, E., Tousoulis, D., Katinioti, A., Stefanadis, C., Trikas, A., Pitsavos, C., et al. Chemokines in patients with ischemic heart disease and the effect of coronary angioplasty. *Int. J. Cardiol.* (2001) 80, 55–60
347. Deo, R., Khera, A., McGuire, D. K., Murphy, S. A., Meo Neto Jde, P., Morrow, D.A., et al. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* (2004) 44, 1812–1818
348. Tang, W., Pankow, J. S., Carr, J. J., Tracy, R. P., Bielinski, S. J., North, K. E., et al. Association of sICAM-1 and MCP-1 with coronary artery calcification in families enriched for coronary heart disease or hypertension: the NHLBI Family Heart Study. *BMC Cardiovasc. Disord.* (2007) 7, 30–41
349. de Lemos, J. A., Morrow, D. A., Blazing, M. A., Jarolim, P., Wiviott, S. D., Sabatine, M. S., et al. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* (2007) 50, 2117–2124
350. Niu J, Kolattukudy PE. Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Sci (Lond).* 2009 Jul 2; 117(3):95-109.

351. Metcalf D. The colony-stimulating factors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2010; 10:425–434.
352. Filonzi EL, Zoellner H, Stanton H, Hamilton JA. Cytokine regulation of granulocyte-macrophage colony stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor production in human arterial smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 1993 Mar;99(2):241-52.
353. Sakai M, Biwa T, Matsumura T, Takemura T, Matsuda H, Anami Y, et al. Glucocorticoid inhibits oxidized LDL-induced macrophage growth by suppressing the expression of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Jul;19(7):1726-33
354. Brochériou I, Maouche S, Durand H, Braunersreuther V, Le Naour G, Gratchev A, et al. Antagonistic regulation of macrophage phenotype by M-CSF and GM-CSF: implication in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2011 Feb;214(2):316-24.
355. van Tits LJ, Stienstra R, van Lent PL, Netea MG, Joosten LA, Stalenhoef AF. Oxidized LDL enhances pro-inflammatory responses of alternatively activated M2 macrophages: a crucial role for Krüppel-like factor 2. *Atherosclerosis*. 2011 Feb;214(2):345-9.
356. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol*. 2001 Mar; 158(3):879-91.
357. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:533–544
358. Lacey DC, Achuthan A, Fleetwood AJ, Dinh H, Roiniotis J, Scholz GM, et al. Defining GM-CSF- and macrophage-CSF-dependent macrophage responses by in vitro models. *J Immunol*. 2012 Jun 1;188(11):5752-65.
359. Becker L, Liu NC, Averill MM, Yuan W, Pamir N, Peng Y, et al. Unique proteomic signatures distinguish macrophages and dendritic cells. *PLoS One*. 2012;7(3):e33297.

360. Fleetwood AJ, Lawrence T, Hamilton JA, Cook AD. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: implications for CSF blockade in inflammation. *J Immunol*. 2007 Apr 15; 178(8):5245-52.
361. Verreck FA, de Boer T, Langenberg DM, van der Zanden L, Ottenhoff TH. Phenotypic and functional profiling of human proinflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN-gamma- and CD40L-mediated costimulation. *J Leukoc Biol*. 2006 Feb; 79(2):285-93.
362. Cho HJ, Shashkin P, Gleissner CA, Dunson D, Jain N, Lee JK, et al. Induction of dendritic cell-like phenotype in macrophages during foam cell formation. *Physiol Genomics*. 2007 Apr 24; 29(2):149-60.
363. Johnson JL, Devel L, Czarny B, George SJ, Jackson CL, Rogakos V, et al. A selective matrix metalloproteinase-12 inhibitor retards atherosclerotic plaque development in apolipoprotein E-knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 Mar;31(3):528-35.
364. Johnson JL, Sala-Newby GB, Ismail Y, Aguilera CM, Newby AC. Low tissue inhibitor of metalloproteinases 3 and high matrix metalloproteinase 14 levels defines a subpopulation of highly invasive foam-cell macrophages.. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Sep;28(9):1647-53.
365. Shindo J, Ishibashi T, Yokoyama K, Nakazato K, Ohwada T, Shiomi M, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor prevents the progression of atherosclerosis via changes in the cellular and extracellular composition of atherosclerotic lesions in watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation*. 1999 Apr 27;99(16):2150-6.
366. Zhu SN, Chen M, Jongstra-Bilen J, Cybulsky MI. GM-CSF regulates intimal cell proliferation in nascent atherosclerotic lesions. *J Exp Med*. 2009 Sep 28; 206(10):2141-9.

367. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995 Jul 28; 269(5223):540-3.
368. Tuominen JA, Ebeling P, Heiman ML, Stephens T, Koivisto VA. Leptin and thermogenesis in humans. *Acta Physiol Scand*. 1997 May; 160(1):83-7.
369. Oda A, Taniguchi T, Yokoyama M. Leptin stimulates rat aortic smooth muscle cell proliferation and migration. *The Kobe Journal of Medical Sciences* 2001; 47:141-50.
370. Vecchione C, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G, et al. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes*. 2002 Jan; 51(1):168-73.
371. Korda M, Kubant R, Patton S, Malinski T. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Oct; 295(4):H1514-21.
372. Quehenberger P, Exner M, Sunder-Plassmann R, Ruzicka K, Bieglmayer C, Endler G, et al. Leptin induces endothelin-1 in endothelial cells in vitro. *Circ Res*. 2002 Apr 5;90(6):711-8.
373. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest*. 1997 Jul 15;100(2):270-8.
374. Konstantinides S, Schäfer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest*. 2001 Nov;108(10):1533-40.
375. O'Rourke L, Gronning LM, Yeaman SJ, Shepherd PR. Glucose-dependent regulation of cholesterol ester metabolism in macrophages by insulin and leptin. *J Biol Chem*. 2002 Nov 8;277(45):42557-62.
376. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J*. 1998 Jan; 12(1):57-65.



377. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Chernova J, Lawlor DA, Kelly A, et al. Leptin and coronary heart disease: prospective study and systematic review. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Jan 13; 53(2):167-75.
378. Zhang F, Wang S, Signore AP, Chen J. Neuroprotective effects of leptin against ischemic injury induced by oxygen-glucose deprivation and transient cerebral ischemia. *Stroke*. 2007 Aug; 38(8):2329-36.
379. Marra F, Navari N, Vivoli E, Galastri S, Provenzano A. Modulation of liver fibrosis by adipokines. *Dig Dis*. 2011;29(4):371-6.
380. Zografos TA, Liaskos C, Rigopoulou EI, Togousidis E, Makaritsis K, Germenis A, et al. Adiponectin: a new independent predictor of liver steatosis and response to IFN-alpha treatment in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2008 Mar;103(3):605-14.
381. Ukkola O, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? *Journal of Molecular Medicine* 2002;80:696-702
382. Renaldi O, Pramono B, Sinorita H, Purnomo LB, Asdie RH, Asdie AH. Hypoadiponectinemia: a risk factor for metabolic syndrome. *Acta Med Indones*. 2009 Jan; 41(1):20-4.
383. Achari AE, Jain SK. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2017 Jun 21; 18(6). pii: E1321.
384. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M., Arita T., Kumada M., et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2002; 106(22):2767-70.
385. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation*. 2002 Jun 18;105(24):2893-8.

386. Hayashi M, Shibata R, Takahashi H, Ishii H, Aoyama T, Kasuga H, et al. Association of adiponectin with carotid arteriosclerosis in predialysis chronic kidney disease. *Am J Nephrol*. 2011;34(3):249-55.
387. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jun;20(6):1595-9.
388. Pischon T, Hu FB, Girman CJ, Rifai N, Manson JE, Rexrode KM, et al. Plasma total and high molecular weight adiponectin levels and risk of coronary heart disease in women. *Atherosclerosis*. 2011 Nov;219(1):322-9.
389. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA*. 2004 Apr 14; 291(14):1730-7.
390. Persson J, Lindberg K, Gustafsson TP, Eriksson P, Paulsson-Berne G, Lundman P. Low plasma adiponectin concentration is associated with myocardial infarction in young individuals. *J Intern Med*. 2010 Aug; 268(2):194-205.
391. Ai M, Otokozawa S, Asztalos BF, White CC, Cupples LA, Nakajima K, et al. Adiponectin: an independent risk factor for coronary heart disease in men in the Framingham offspring Study. *Atherosclerosis*. 2011 Aug;217(2):543-8.
392. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Tchernova J, Cherry L, Wallace AM, et al. Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Circulation*. 2006 Aug 15;114(7):623-9.
393. Gardener H, Sjoberg C, Crisby M, Goldberg R, Mendez A, Wright CB, et al. Adiponectin and carotid intima-media thickness in the northern Manhattan study. *Stroke*. 2012 Apr;43(4):1123-5.
394. Kawamoto R, Tabara Y, Kohara K, Miki T, Kusunoki T, Katho T, et al. Serum high molecular weight adiponectin correlates with arterial stiffness in community-dwelling persons. *Endocr Res*. 2011; 36(2):53-63.
395. Ho DY, Cook NR, Britton KA, Kim E, Creager MA, Ridker PM, et al. High-molecular-weight and total adiponectin levels and incident symptomatic peripheral

- artery disease in women: a prospective investigation. *Circulation*. 2011 Nov 22;124(21):2303-11.
396. Shand BI, Scott RS, Elder PA, George PM. Plasma adiponectin in overweight, nondiabetic individuals with or without insulin resistance. *Diabetes Obes Metab*. 2003 Sep;5(5):349-53.
397. Ridker PM, MacFadyen JG, Wolfert RL, Koenig W. Relationship of lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity with incident vascular events among primary prevention patients allocated to placebo or to statin therapy: an analysis from the JUPITER trial. *Clin. Chem*. 2012; 58(5):877–886.
398. Münzel T, Gori T. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), a marker of vascular inflammation and systemic vulnerability. *Eur. Heart J*. 2009; 30(23):2829–2831.
399. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2005; 25(5):923–931.
400. Häkkinen , T. , J. S. Luoma , M. O. Hiltunen , C. H. Macphee , K. J. Milliner , L. Patel , et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 , platelet- activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 1999;19 : 2909 – 2917
401. Mannheim , D. , J. Herrmann , D. Versari , M. Gossel , F. B. Meyer , J. P. McConnell , et al . Enhanced expression of Lp-PLA 2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2008;39 : 1448 – 1455
402. Chen CH, Jiang T, Yang JH, Jiang W, Lu J, Marathe GK, et al. Low-density lipoprotein in hypercholesterolemic human plasma induces vascular endothelial cell apoptosis by inhibiting fibroblast growth factor 2 transcription. *Circulation*. 2003 Apr 29;107(16):2102-8.
403. Yang , M. , E. M. Chu , M. J. Caslake , C. Edelstein , A. M. Scanu , and J. S. Hill . Lipoprotein-associated phospholipase A 2 decreases oxidized lipoprotein cellular association by human macrophages and hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 2010 . 1801 : 176 – 182

404. Lee , C. , F. Sigari , T. Segrado , S. Horkko , S. Hama , P. V. Subbaiah ,et al. All ApoB-containing lipoproteins induce monocyte chemotaxis and adhesion when minimally modified. Modulation of lipoprotein bioactivity by platelet-activating factor acetylhydrolase. *Arterioscler.Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19 : 1437 – 1446 .
405. Thompson A, Gao P, Orfei L, Watson S, Di Angelantonio E, Kaptoge S, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet.* 2010; 375(9725):1536–1544.
406. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G,et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation.* 2004; 109(7):837–842.
407. Oei H-HS, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2005;111(5):570–575.
408. Koenig, W, D. Twardella , H. Brenner , D. Rothenbacher .Lipoprotein-associated phospholipase A 2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc.Biol.* (2006) 26 : 1586 – 1593 .
409. Brilakis , E. S. , J. P. McConnell , R. J. Lennon , A. A. Elesber , J. G. Meyer , P. B. Berger . . Association of lipoprotein-associated phospholipase A 2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur. Heart J.* 2005; 26 : 137 – 144 .
410. Sabatine , M. S. , D. A. Morrow , M. O'Donoghue , K. A. Jablonski , M. M. Rice , S. Solomon , et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A 2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27 : 2463 – 2469
411. Möckel , M. , R. Muller , J. O. Vollert , C. Muller , O. Danne , R. Gareis , et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study-II (NOBIS-II). *Clin. Res. Cardiol.* 2007; 96 : 604 – 612 .

412. Gerber , Y. , J. P. McConnell , A. S. Jaffe , S. A. Weston , J. M. Killian , and V. L. Roger .Lipoprotein-associated phospholipase A 2 and prognosis after myocardial infarction in the community. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 2517 – 2522 .
413. Oldgren , J. , S. K. James , A. Siegbahn , and L. Wallentin . 2007. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 does not predict mortality or new ischaemic events in acute coronary syndrome patients. *Eur. Heart J.* 2007; 28 : 699 – 704 .
414. O'Donoghue , M. , D. A. Morrow , M. S. Sabatine , S. A. Murphy , C. H. McCabe , C. P. Cannon , et al. Lipoprotein associated phospholipase A 2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation* 2006. 113: 1745 – 1752 .
415. Serruys PW, García-García HM, Buszman P, Erne P, Verheye S, Aschermann M, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation.* 2008; 118(11):1172–1182.
416. O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, Lukas MA, Tarka E, Steg PG, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: the SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial. *JAMA.* 2014; 312(10):1006–1015.
417. STABILITY investigators. Darapladib for Preventing Ischemic Events in Stable Coronary Heart Disease. *N Engl J Med.* 2014;370(18):1702–1711

#### JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO

418. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J.* 2014 Nov 7;35(42):2950–2959

#### MATERIAL Y MÉTODOS

419. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, et al. [Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (diet and risk of cardiovascular disease in Spain) study. DRECE study group]. *Med Clin (Barc).* 1999 Dec 4;113(19):730-5.
420. Friedewald WT, Levy RJ, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972, 18(6):499–502)

421. National Cholesterol Education Program (NCEP): Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation* 2002, 106(25) :3143–342
422. Sánchez-Quesada JL, Perez A, Caixas A, Ordóñez-Llanos J, Carreras G, Payes A., et al. Electronegative low density lipoprotein subform is increased in patients with short-duration IDDM and is closely related to glycaemic control. *Diabetología* 1996; 39 (12): 1469-1476.
423. Sánchez-Quesada JL, Perez A, Caixas A, Rigla M, Payes A, Benitez S., et al. Effect of glyceimic optimization on electronegative low-density lipoprotein in diabetes: relation to nonenzymatic glycosylation and oxidative modification. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (7): 3243-3249.
424. Escolà-Gil, J. C., J. Julve, À. Marzal- Casacuberta, J. Ordóñez-Llanos, F. González-Sastre, F. Blanco-Vaca. Expression of human apolipoprotein A-II in apolipoprotein E-deficient mice induces features of familial combined hyperlipidemia. *J. Lipid Res.* 2000.41:1328–1338.
425. Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Ribas V, Jorba O, Blanco-Vaca F, González-Sastre F, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase is mainly associated with electronegative low-density lipoprotein subfraction. *Circulation.* 2003 Jul 8;108(1):92-6.
426. de Juan-Franco E, Pérez A, Ribas V, Sánchez-Hernández JA, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J, et al. Standardization of a method to evaluate the antioxidant capacity of high-density lipoproteins. *Int J Biomed Sci.* 2009 Dec; 5(4):402-10.
427. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic. Res. Commun.* 1989; 6 (1): 67-75
428. Jialal I, Devaraj S. Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem.* 1996 Apr;42(4):498-506.

## DISCUSIÓN

### CARACTERIZACIÓN METABÓLICA DE LOS SUJETOS CON HFC

429. Anna Tikka, Matti Jauhiainen. The role of ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism. *Endocrine* (2016) 52:187–193
430. Lewis GF, Xiao C, Hegele RA. Hypertriglyceridemia in the Genomic Era: a New Paradigm. *Endocrine Reviews* (2015) Feb;36 (1):131-47
431. Halkes CJ, van Dijk H, Verseyden C, de Jaegere PP, Plokker HW, Meijssen S, et al. Gender differences in postprandial ketone bodies in normolipidemic subjects and in untreated patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Oct 1; 23(10):1875-80.
432. Mora S. Advanced lipoprotein testing and subfractionation are not (yet) ready for routine clinical use. *Circulation* 2009;119:2396–404
433. Nieves DJ, Cnop M, Retzlaff B, Walden CE, Brunzell JD, Knopp RH, et al. The atherogenic lipoprotein profile associated with obesity and insulin resistance is largely attributable to intra-abdominal fat. *Diabetes.* 2003 Jan; 52(1):172-9.
434. Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest.* 1991 Dec;88(6):2059-66.
435. Föger B, Ritsch A, Doblinger A, Wessels H, Patsch JR. Relationship of plasma cholesteryl ester transfer protein to HDL cholesterol. Studies in normotriglyceridemia and moderate hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Dec;16(12):1430-6.
436. Rashid S, Watanabe T, Sakaue T, and Lewis GF. Mechanisms of HDL lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. *Clin Biochem* (2003) 36:421–429
437. Carr M.C. ; Hokanson, J.E.; Zambon, A.; Deeb, S.S.; Barrett, P.H.; Purnell, J.Q.; et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86, 2831–2837.
438. Guendouzi, K.; Jaspard, B.; Barbaras, R.; Motta, C.; Vieu, C.; Marcel, Y.; et al. Biochemical and physical properties of remnant-HDL2 and of pre beta 1-HDL produced by hepatic lipase. *Biochemistry* 1999, 38, 2762–2768.

439. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:707–20.
440. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1991; 87:536–44.
441. Horowitz BS, Goldberg IJ, Merab J, Vanni TM, Ramakrishnan R, Ginsberg HN. Increased plasma and renal clearance of an exchangeable pool of apolipoprotein A-I in subjects with low levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest*. 1993 Apr;91(4):1743-52.
442. Pont F, Duvillard L, Florentin E, Gambert P, Vergès B. High-density lipoprotein apolipoprotein A-I kinetics in obese insulin resistant patients. An in vivo stable isotope study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Sep; 26(9):1151-8.
443. Pulawa LK, Eckel RH. Overexpression of muscle lipoprotein lipase and insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 569–74.
444. Yost TJ, Eckel RH. Regional similarities in the metabolic regulation of adipose tissue lipoprotein lipase. *Metabolism* 1992;41:33–6
445. Tall AR. Plasma high density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 1990; 86:379–84.
446. Eisenberg S. Lipoprotein abnormalities in hypertriglyceridemia: significance in atherosclerosis. *Am Heart J* 1987; 113:555–61.
447. Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 2002; 43:1997–2006.



448. Luc G, Bard JM, Poulain P, Arveiler D, Evans AE, Cambien F, et al. Relationship between low-density lipoprotein size and apolipoprotein A-I-containing particles: the ECTIM study. *Eur J Clin Invest.* 1997 Mar; 27(3):242-7.
449. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW, Schaefer EJ. Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arteriosclerosis* 1987;7:483-90
450. Tan CE, Foster L, Caslake MJ, Bedford D, Watson TD, McConnell M, et al. Relations between plasma lipids and postheparin plasma lipases and VLDL and LDL subfraction patterns in normolipemic men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995 Nov;15(11):1839-48
451. Brunzell JD, Zambon A, Deeb SS. The effect of hepatic lipase on coronary artery disease in humans is influenced by the underlying lipoprotein phenotype. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821:365-372.

#### ESTADO INFLAMATORIO EN LA HFC

452. Gokalp D, Tuzcu A, Bahceci M, Arikan S, Pirinccioglu AG, Bahceci S. Levels of proinflammatory cytokines and hs-CRP in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia. *Acta Cardiol.* 2009 Oct;64(5):603-9
453. Calan M, Calan O, Gonen MS, Bilgir F, Kebapcilar L, Kulac E, et al. Examination of adhesion molecules, homocysteine and hs-CRP in patients with polygenic hypercholesterolemia and isolated hypertriglyceridemia. *Intern Med.* 2011; 50(15):1529-35.
454. Taskinen S, Kovanen PT, Jarva H, Meri S, Pentikäinen MO. Binding of C-reactive protein to modified low-density-lipoprotein particles: identification of cholesterol as a novel ligand for C reactive protein. *Biochem. J.* 2002; 367:403-412.

455. Van Tits L, de Graaf J, Toenhake H, van Heerde W, Stalenhoef A. C-reactive protein and annexin A5 bind to distinct sites of negatively charged phospholipids present in oxidized low-density lipoprotein. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25:717–722.
456. Singh U, Dasu MR, Yancey PG, Afify A, Devaraj S, Jialal I. Human C-reactive protein promotes oxidized low density lipoprotein uptake and matrix metalloproteinase-9 release in Wistar rats. *J. Lipid Res.* 2008; 49:1015–1023
457. De Beer FC, Soutar AK, Baltz ML, Trayner IM, Feinstein A, Pepys MB. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. *J. Exp. Med.* 1982; 156:230–242.
458. Nunomura W, Hatakeyama M. Binding of low density lipoprotein (LDL) to C-reactive protein (CRP): a possible binding through apolipoprotein B in LDL at phosphorylcholine-binding site of CRP. *Hokkaido J. Med. Sci.* 1990; 65:474–480.
459. Fu T, Borensztajn J. Macrophage uptake of low-density lipoprotein bound to aggregated C-reactive protein: possible mechanism of foam-cell formation in atherosclerotic lesions. *Biochem. J.* 2002; 366:195–201.
460. Bhakdi S, Torzewski M, Klouche M, Hemmes M. Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19:2348–2354.
461. Tabuchi M, Inoue K, Usui-Kataoka H, Kobayashi K, Teramoto M, Takasugi K, et al. The association of C-reactive protein with an oxidative metabolite of LDL and its implication in atherosclerosis. *J. Lipid Res.* 2007; 48:768–781.
462. Agrawal A, Singh SK, Thompson JA, Hammond DJ, Rusinol AE. Requirements for the binding of C-reactive protein to oxidized low-density lipoprotein. *FASEB J.* 2009; 23:1006.2.

463. Shih HH, Zhang S, Cao W, Hahn A, Wang J, Paulsen JE, et al. CRP is a novel ligand for the oxidized LDL receptor LOX-1. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009; 296:H1643–H1650.
464. Tsai MH, Chang CL, Yu YS, Lin TY, Chong CP, Lin YS, et al. Chemical analysis of C-reactive protein synthesized by human aortic endothelial cells under oxidative stress. *Anal Chem.* 2012 Nov 6;84(21):9646-54.
465. Chu CS, Wang YC, Lu LS, Walton B, Yilmaz HR, Huang RY, et al. Electronegative low-density lipoprotein increases C-reactive protein expression in vascular endothelial cells through the LOX-1 receptor. *PLoS One.* 2013 Aug 8;8(8):e70533.
466. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Macrophage conditioned medium induces the expression of C-reactive protein in human aortic endothelial cells: potential for paracrine/autocrine effects. *Am J Pathol* (2005) 166: 1265-1271.
467. Lubrano V, Balzan S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. *World J Exp Med.* 2015 Feb 20; 5(1):21-32.
468. Schuett H, Luchtefeld M, Grothusen C, Grote K, Schieffer B. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2009 Aug;102(2):215-22.
469. Meuwissen M, van der Wal AC, Niessen HW, Koch KT, de Winter RJ, van der Loos CM, et al. Colocalisation of intraplaque C reactive protein, complement, oxidised low density lipoprotein, and macrophages in stable and unstable angina and acute myocardial infarction. *J Clin Pathol.* 2006 Feb; 59(2):196-201.
470. Joshi PH, Jacobson TA. Therapeutic options to further lower C-reactive protein for patients on statin treatment. *Curr Atheroscler Rep* (2010); 12: 34-42.

471. Christensen JJ, Osnes L, Halvorsen B, Retterstøl K, Bogsrud MP, Wium C, et al. Data on circulating leukocyte subpopulations and inflammatory proteins in children with familial hypercholesterolemia and healthy children. *Data Brief*. 2016 Dec 29;10:587-592
472. Lee SY, Chen SL, Chang YH, Chen PS, Huang SY, Tzeng NS, et al. Inflammation's Association with Metabolic Profiles before and after a Twelve-Week Clinical Trial in Drug-Naïve Patients with Bipolar II Disorder. *PLoS One*. 2013 Jun 27;8(6):e66847.
473. Vuksan-Cusa, B., Sagud, M., Jakovljevic, M., Peles, A.M., Jaksic, N., Mihaljevic, et al. Association between C-reactive protein and homocysteine with the subcomponents of metabolic syndrome in stable patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Nord. J. Psychiatry* (2013); 67, 320–325.
474. Romano M, Guagnano MT, Pacini G, Vigneri S, Falco A, Marinopicolli M, et al. Association of inflammation markers with impaired insulin sensitivity and coagulative activation in obese healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Nov;88(11):5321-6.
475. Parissis JT, Venetsanou KF, Kalantzi MV, Mentzikof DD, Karas SM. Serum profiles of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and C-C chemokines in hypertensive patients with or without significant hyperlipidemia. *Am J Cardiol*. 2000 Mar 15;85(6):777-9, A9.
476. Bláha V, Andrýs C, Smahelová A, Knízek J, Hyspler R, Solichová D, et al. Effect of atorvastatin on soluble CD14, CD40 Ligand, sE- and sP-selectins and MCP-1 in patients with type 2 diabetes mellitus: relationship to cholesterol turnover. *Pharmacol Res*. 2006 Dec; 54(6):421-8.
477. Illan GF, Alcaraz TMS, Pascual DM, Carrilo AA. Atorvastatin lowers C reactive protein in dislipemic patients with type 2 diabetes mellitus. *Med Clin (Barc)* 2004; 123:535–7.
478. J. Kowalski, B. Okopień, A. Madej, M. Zieliński, D. Belowski, Z. Kalina, et al. Effects of atorvastatin, simvastatin, and fenofibrate therapy on monocyte chemoattractant

- protein-1 secretion in patients with hyperlipidemia. *Eur J Clin Pharmacol* (2003) 59: 189–193
479. Stefanutti C, Vivenzio A, Ferraro PM, Morozzi C, Belotherkovsky D. Apheresis-inducible cytokine pattern change in severe, genetic dyslipidemias. *Cytokine*. 2011 Dec; 56(3):835-41.
480. Eikendal AL, Evelein AM, Uiterwaal CS, van der Ent CK, Visseren FL, Bots ML, et al. Relation Between Circulating Inflammatory Chemokines and Vascular Characteristics in Healthy, Young Children. *J Am Heart Assoc*. 2015 Dec 16; 4(12). e002346
481. Levula M, Jaakkola O, Luomala M, Nikkari ST, Lehtimäki T. Effects of oxidized low- and high-density lipoproteins on gene expression of human macrophages. *Scand J Clin Lab Invest*. 2006; 66(6):497-508.
482. Takahara N, Kashiwagi A, Nishio Y, Harada N, Kojima H, Maegawa H, et al. Oxidized lipoproteins found in patients with NIDDM stimulate radical-induced monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in cultured human endothelial cells. *Diabetologia*. 1997 Jun;40(6):662-70.
483. Hitsumoto T, Takahashi M, Iizuka T, Shirai K. Relationship between two AMI risk factors: low serum lipoprotein lipase mass and hypoadiponectinemia. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18:148–56.
484. Yatsuzuka S, Shimomura Y, Akuzawa M, Ando Y, Kobayashi I, Nakano T, et al. Plasma adiponectin is a more specific marker of fatty liver than a marker of metabolic syndrome in Japanese men. *Ann Clin Biochem*. 2014 Jan;51(Pt 1):68-79.
485. Tian C, Ye X, Zhang R, Long J, Ren W, Ding S, et al. Green tea polyphenols reduced fat deposits in high fat-fed rats via erk1/2-PPAR $\gamma$ -adiponectin pathway. *PLoS One*. 2013;8(1):e53796.
486. Chan DC, Watts GF, Ng TW, Uchida Y, Sakai N, Yamashita S, et al. Adiponectin and other adipocytokines as predictors of markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chem*. 2005 Mar; 51(3):578-85.

487. Ng TW, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PH. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes* 2005; 54:795–802.
488. Vergès B. Abnormal hepatic apolipoprotein B metabolism in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2010; 211:353–60.
489. Shirakawa T, Nakajima K, Yatsuzuka S, Shimomura Y, Kobayashi J, Machida T, et al. The role of circulating lipoprotein lipase and adiponectin on the particle size of remnant lipoproteins in patients with diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Clin Chim Acta*. 2015 Feb 2; 440:123-32.
490. Weiss R, Otvos JD, Flyvbjerg A, Miserez AR, Frystyk J, Sinnreich R, et al. Adiponectin and lipoprotein particle size. *Diabetes Care*. 2009 Jul; 32(7):1317-9.
491. Kawamoto R, Tabara Y, Kohara K, Miki T, Kusunoki T, Takayama S, et al. Relationships between lipid profiles and metabolic syndrome, insulin resistance and serum high molecular adiponectin in Japanese community-dwelling adults. *Lipids Health Dis*. 2011 May 17; 10:79.
492. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006 Jul; 116(7):1784-92.

#### MODIFICACIONES DE LAS LDL EN LA HFC

493. Liu ML, Ylitalo K, Salonen R, Salonen JT, Taskinen MR. Circulating oxidized low-density lipoprotein and its association with carotid intima-media thickness in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Aug;24(8):1492-7.
494. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22:1162–1167.

495. Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H, et al. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis*. 2000; 148:171–177.
496. Mascarenhas-Melo F, Palavra F, Marado D, Sereno J, Teixeira-Lemos E, Freitas I, et al. Emergent biomarkers of residual cardiovascular risk in patients with low HDL-c and/or high triglycerides and average LDL-c concentrations: focus on HDL subpopulations, Oxidized LDL, adiponectin, and uric acid. *Scientific World Journal*. 2013 Nov 4; 2013:387849.
497. Tribble DL, Rizzo M, Chait A, Lewis DM, Blanche PJ, Krauss RM. Enhanced oxidative susceptibility and reduced antioxidant content of metabolic precursors of small, dense low-density lipoproteins. *Am J Med*. 2001 Feb 1; 110(2):103-10.
498. Chait A, Brazg RL, Tribble DL, Krauss RM. Susceptibility of small, dense, low-density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med*. 1993;94: 350–356.
499. Hurt-Camejo E, Olsson U, Wiklund O, Bondjers G, Camejo G. Cellular consequences of the association of apoB lipoproteins with proteoglycans. Potential contribution to atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17:1011–1017.
500. M. Granér, J. Kahri, T. Nakano, S. J. Sarna, M. S. Nieminen, M. Syväne et al. Impact of postprandial lipaemia on low-density lipoprotein (LDL) size and oxidized LDL in patients with coronary artery disease. *European Journal of Clinical Investigation*(2006) 36, 764–770
501. Jia Wu, Yong-hui Shi, Dong-mei Niu, Han-qing Li, Chun-ni Zhang, Jun-jun Wang. Association among retinol-binding protein 4, small dense LDL cholesterol and oxidized LDL levels in dyslipidemia subjects. *Clinical Biochemistry* 45 (2012) 619–622
502. Hasegawa G, Kajiyama S, Tanaka T, Imai S, Kozai H, Fujinami A, et al. The alpha-glucosidase inhibitor acarbose reduces the net electronegative charge of low-density lipoprotein in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*. 2008 Apr; 390(1-2):110-4.

503. Kovanen P.T., Pentikäinen M.O., “Circulating lipoproteins as proinflammatory and anti-inflammatory particles in atherogenesis,” *Current Opinion in Lipidology*, (2003) 14 (5): 411–419.
504. Chappey B, Myara I, Benoit M.-O., Maziere C., Maziere J.-C., Moatti N. Characteristics of ten charge-differing subfractions isolated from human native low-density lipoproteins (LDL). No evidence of peroxidative modifications, *Biochimica et Biophysica Acta*, (1995); 1259 (3): 261–270.
505. Biwa T, Sakai M, Shichiri M, Horiuchi S. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plays an essential role in oxidized low density lipoprotein-induced macrophage proliferation. *J Atheroscler Thromb*. 2000; 7(1):14-20.

#### CARACTERISTICAS DE LAS HDL EN LA HFC

506. Duriez P, Fruchart JC High-density lipoprotein subclasses and apolipoprotein A-I. *Clin Chim Acta* (1999) 286:97–114
507. Martin SS, Jones SR, Toth PP. High-density lipoprotein subfractions: current views and clinical practice applications. *Trends Endocrinol Metab*. 2014 Jul; 25(7):329-36.
508. Asztalos BF, Tani M, Schaefer EJ. Metabolic and functional relevance of HDL subspecies. *Curr Opin Lipidol*. 2011 Jun; 22(3):176-85.
509. Fruchart, J. C., G. Aihaud. Apolipoprotein A-containing lipoprotein particles: physiological role, quantification, and clinical significance. *Clin. Chem*. 1992; 38: 793–797
510. Li Tian, Mingde Fu, Lianqun Jia, Yanhua Xu, Shiyin Long, Haoming Tian, et al. Relationship Between Apolipoprotein Concentrations and HDL Subclasses Distribution. *Lipids* (2007) 42:419–426
511. Lagocki PA, Scanu AM. In vitro modulation of the apolipoprotein composition of high density lipoprotein. Displacement of apolipoprotein A-I from high density lipoprotein by apolipoprotein A-II. *J Bio Chem*. 1980; 255: 3701 – 6.



512. Julve J, Escolà-Gil JC, Ribas V, González-Sastre F, Ordóñez-Llanos J, Sánchez-Quesada JL, et al. Mechanisms of HDL deficiency in mice overexpressing human apoA-II. *J Lipid Res.* 2002 Oct;43(10):1734-42.
513. Koike T, Kitajima S, Yu Y, Li Y, Nishijima K, Liu E, et al. Expression of human apoAII in transgenic rabbits leads to dyslipidemia: a new model for combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 Dec; 29(12):2047-53.
514. Boisfer E, Lambert G, Atger V, Tran NQ, Pastier D, Benetollo C, et al. Overexpression of human apolipoprotein A-II in mice induces hypertriglyceridemia due to defective very low density lipoprotein hydrolysis. *J Biol Chem.* 1999 Apr 23;274(17):11564-72.
515. Pastier D, Dugué S, Boisfer E, Atger V, Tran NQ, van Tol A, et al. Apolipoprotein A-II/A-I ratio is a key determinant in vivo of HDL concentration and formation of pre-beta HDL containing apolipoprotein A-II. *Biochemistry.* 2001 Oct 16;40(41):12243-53.
516. De Oliveira e Silva ER, Kong M, Han Z, Starr C, Kass EM, Juo SH, et al. Metabolic and genetic determinants of HDL metabolism and hepatic lipase activity in normolipidemic females. *J Lipid Res.* 1999 Jul; 40(7):1211-21.
517. Chan DC, Ng TW, Watts GF. Apolipoprotein A-II: evaluating its significance in dyslipidaemia, insulin resistance, and atherosclerosis. *Ann Med.* 2012 Jun;44(4):313-24.
518. Miida T, Kawano M, Fielding CJ. Regulation of the concentration of preb high-density lipoprotein in normal plasma by cell membranes and lecithin:cholesterol acyltransferase activity. *Biochemistry (1992)* 31:11112–11117
519. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis (1999)* 145:227–238
520. Miida T, Yamaguchi T, Tsuda T, Okada M. High prebeta1-HDL levels in hypercholesterolemia are maintained by probucol but reduced by a low-cholesterol diet. *Atherosclerosis (1998)* 138:128–134

521. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I: Reduction in the incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984, 251:351-364.
522. Miida T, Inano K, Yamaguchi T, Tsuda T, Okada M. LpA-I levels do not reflect pre $\beta$ 1-HDL levels in human plasma. *Atherosclerosis* (1997) 133:221–226
523. Gou LT, Fu MD, Xu YH, Tian L, Yan BY, Yang LC. Alterations of HDL subclasses in endogenous hypertriglyceridemia. *Am Heart J* 2005, 150:1039-1045.
524. Asztalos BF, Roheim PS, Milani RL, Lefevre M, McNamara JR, Horvath KV, et al. Distribution of ApoA-I-containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2670–2676.
525. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2181–2187.
526. Asztalos BF, Collins D, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Bloomfield HE, et al. Value of high-density lipoprotein (HDL) subpopulations in predicting recurrent cardiovascular events in the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2185–2191.
527. Lamon-Fava S, Herrington DM, Reboussin DM, Sherman M, Horvath KV, Cupples LA, et al. Plasma levels of HDL subpopulations and remnant lipoproteins predict the extent of angiographically- defined coronary artery disease in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 575–579.
528. Asztalos BF, Batista M, Horvath KV, Cox CE, Dallal GE, Morse JS, et al. Change in alpha1 HDL concentration predicts progression in coronary artery stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 847–852.
529. Xu Y, Fu M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. *Clin Chim Acta* (2003) 332:95–102.

530. Yang Y, Yan B, Fu M, Xu Y, Tian Y. Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses. *Clin Chim Acta* (2005) 354:49–58.
531. Jia LQ, Fu MD, Tian Y, Xu YH, Gou LT, Tian HM, et al. Alterations of high-density lipoprotein subclasses in hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia. *Int Cardio J* 2007, 120:331-337.
532. Escola-Gil JC, Julve J, Marzal-Casacuberta A, Ordoñez-Llanos J, Gonzalez-Sastre F, Blanco-Vaca F. ApoA-II expression in CETP transgenic mice increases VLDL production and impairs VLDL clearance. *J Lipid Res.* 2001; 42:241 – 8.
533. Warden CH, Hedrick CC, Qiao JH, Castellani LW, Lusis AJ. Atherosclerosis in transgenic mice overexpressing apolipoprotein A-II. *Science.* 1993; 261:469 – 72.
534. Castellani LW, Nguyen CN, Charugundla S, Weinstein MM, Doan CX, Blamer WS, et al. Apolipoprotein AII is a regulator of very low density lipoprotein metabolism and insulin resistance. *J Biol Chem.* 2008 Apr 25; 283(17):11633-44.
535. Vohl MC, Lamarche B, Bergeron J, Moorjani S, Prud'homme D, Nadeau A, et al. The MspI polymorphism of the apolipoprotein A-II gene as a modulator of the dyslipidemic state found in visceral obesity. *Atherosclerosis.* 1997 Feb 10; 128(2):183-90.
536. Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Tanaka T, Perez-Martinez P, Jimenez-Gomez Y, Marin C, et al. An apolipoprotein A-II polymorphism (-265T/C, rs5082) regulates postprandial response to a saturated fat overload in healthy men. *J Nutr.* 2007 Sep; 137(9):2024-8.
537. Julve J, Escolà-Gil JC, Rotllan N, Fiévet C, Vallez E, de la Torre C, et al. Human apolipoprotein A-II determines plasma triglycerides by regulating lipoprotein lipase activity and high-density lipoprotein proteome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Feb;30(2):232-8.
538. Li Tian, Mingde Fu. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations. *Lipids in Health and Disease* 2010, 9:118

539. Calderon RM, Diaz S, Szeto A, Llinas JA, Hughes TA, Mendez AJ, et al. Elevated Lipoprotein Lipase Activity Does Not Account for the Association Between Adiponectin and HDL in Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Jul; 100(7):2581-8.
540. Tardy C, Goffinet M, Boubekeur N, Ackermann R, Sy G, Bluteau A, et al. CER-001, a HDL-mimetic, stimulates the reverse lipid transport and atherosclerosis regression in high cholesterol diet-fed LDL-receptor deficient mice. *Atherosclerosis.* 2014 Jan; 232(1):110-8.
541. Sparks DL, Davidson WS, Lund-Katz S, Phillips MC. Effects of the neutral lipid content of high density lipoprotein on apolipoprotein A-I structure and particle stability. *J Biol Chem* (1995) 270:26910–26917.
542. Rashid S, Barrett PH, Uffelman KD, Watanabe T, Adeli K, Lewis GF. Lipolytically modified triglyceride-enriched HDLs are rapidly cleared from the circulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2002) 22:483–487
543. Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RP. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Investig* (2003) 33:1051–1069.
544. Mirhafez SR, Tajfard M, Avan A, Pasdar A, Nedaeinia R, Aghasizade M, et al. Association between serum cytokine concentrations and the presence of hypertriglyceridemia. *Clin Biochem.* 2016 Jul;49(10-11):750-5.
545. Cheung MC, Sibley SD, Palmer JP, Oram JF, Brunzell JD. Lipoprotein lipase and hepatic lipase: their relationship with HDL subspecies Lp(A-I) and Lp(A-I,A-II). *J Lipid Res.* 2003 Aug; 44(8):1552-8.
546. Kontush A, Hubner C, Finckh B, Kohlschutter A, Beisiegel U. Antioxidative activity of ubiquinol-10 at physiologic concentrations in human low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* (1995) 1258:177–187
547. K.A. Rye, P.J. Barter, Cardioprotective functions of HDLs, *J. Lipid Res.* (2014); 55 (2) 168–179.

548. Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L et al . Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res.* 2000 Sep; 41(9):1481-94.
549. Zerrad-Saadi A, Therond P, Chantepie S, Couturier M, Rye KA, Chapman MJ, et al. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 Dec; 29(12):2169-75.
550. Boisfer E, Stengel D, Pastier D, Laplaud PM, Dousset N, Ninio E, et al. Antioxidant properties of HDL in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein A-II. *J Lipid Res.* 2002 May;43(5):732-41.
551. Brites F, Martin M, Guillas I, Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clin.* 2017 Aug 19;8:66-77.
552. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Investig* (1995) 96:2882–2891.
553. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paromo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 1998 Apr 15;101(8):1581-90.
554. A.E. Razavi, M.Ani , M. Pourfarzam, G.A. Naderi, Associations between high density lipoprotein mean particle size and serum paraoxonase-1 activity, *J. Res. Med. Sci.* 17 (2012) 1020–1026.
555. M.I. Mackness, S. Arrol, P.N. Durrington, Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein, *FEBS Lett.* 286 (1991) 152–154.
556. Deakin S, Leviev I, Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G, James RW. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J Biol Chem.* 2002 Feb 8;277(6):4301-8.

557. R.W. James, S.P. Deakin, The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity, *Free Radic. Biol. Med.* 37 (2004) 1986–1994.
558. L. Gaidukov, D.S. Tawfik, The development of human sera tests for HDL bound serum PON1 and its lipolactonase activity, *J. Lipid Res.* 48 (2007) 1637–1646
559. Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002; 3: 57-68.
560. Stremmler KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem* 1991; 266:11095-103
561. Kujiraoka, T., Iwasaki T., Ishihara M., Ito M., Nagano M., Kawaguchi A., et al. Altered distribution of plasma PAF-AH between HDLs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J. Lipid Res.* 2003.44:2006–2014.
562. Tsimihodimos, V., S. A. Karabina, A. P. Tambaki, E. Bairaktari, J. A. Goudevenos, M. J. Chapman, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and IIB. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 306–311.
563. Tsimihodimos, V., S. A. Karabina, A. P. Tambaki, E. Bairaktari, G. Miltiadous, J. A. Goudevenos, et al. Altered distribution of platelet activating factor-acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J. Lipid Res.* 2002; 43:256–263
564. Li Tian, Mingde Fu. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations. *Lipids in Health and Disease* 2010, 9:118
565. Camont L, Lhomme M, Rached F, Le Goff W, Nègre-Salvayre A, Salvayre R, et al. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013 Dec;33(12):2715-23.
566. Kontush, A., M.Lhomme, M. J. Chapman. Unraveling the complexities of the HDL lipidome. *J. Lipid Res.* 2013. 54: 2950–2963

567. Woudberg NJ, Pedretti S, Lecour S, Schulz R, Vuilleumier N, James RW, et al. Pharmacological Intervention to Modulate HDL: What Do We Target? *Front Pharmacol.* 2018 Jan 22; 8:989.
568. Hansel B, Giral P, Nobecourt E, Chantepie S, Bruckert E, Chapman MJ, et al. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Oct; 89(10):4963-71.
569. de Souza JA, Vindis C, Hansel B, Nègre-Salvayre A, Therond P, Serrano CV Jr, et al. Metabolic syndrome features small, apolipoprotein A-I-poor, triglyceride-rich HDL3 particles with defective anti-apoptotic activity. *Atherosclerosis.* 2008 Mar; 197(1):84-94.
570. Hussein H, Saheb S, Couturier M, Atassi M, Orsoni A, Carrié A, et al. Small, dense high-density lipoprotein 3 particles exhibit defective antioxidative and anti-inflammatory function in familial hypercholesterolemia: Partial correction by low-density lipoprotein apheresis. *J Clin Lipidol.* 2016 Jan-Feb;10(1):124-33.
571. Nobecourt E, Jacqueminet S, Hansel B, Chantepie S, Grimaldi A, Chapman MJ, et al. Defective antioxidative activity of small, dense HDL particles in type 2 diabetes: relationship to elevated oxidative stress and hyperglycemia. *Diabetologia* (2005) 48:529–538.
572. Kontush A, de Faria EC, Chantepie S, Chapman MJ. A normotriglyceridemic, low HDL-cholesterol phenotype is characterised by elevated oxidative stress and HDL particles with attenuated antioxidative activity. *Atherosclerosis* 2005; 182:277–85.

#### MODIFICACIÓN DE LAS ALTERACIONES EN LA HFC CON LA TERAPEÚTICA HIPOLIPEMIANTE

573. Lahoz C, Mostaza JM, Pintó X, de la Cruz JJ, Banegas JR, Pedro-Botet J; grupo de investigadores EDICONDIS-ULISEA. [LDL-cholesterol control in patients with genetic dyslipidemia followed up by Lipid and Vascular Risk Units of the Spanish Society of Arteriosclerosis]. *Clin Investig Arterioscler.* 2015 Jan-Feb;27(1):1-8.
574. Agarwala A, Kulkarni S, Maddox T. The Association of Statin Therapy with Incident Diabetes: Evidence, Mechanisms, and Recommendations. *Curr Cardiol Rep.* 2018 May 19; 20(7):50.

575. Skoumas I, Ioakeimidis N, Vlachopoulos C, Chrysohoou C, Michalakeas C, Georgakopoulos C, et al. Statin Therapy and Risk of Diabetes Mellitus in Aging Patients With Heterozygous Familial Hypercholesterolemia or Familial Combined Hyperlipidemia: A 10-Year Follow-Up. *Angiology*. 2018 Mar;69(3):242-248.
576. Guerre-Millo M, Gervois P, Raspé E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem*. 2000 Jun 2; 275(22):16638-42.
577. Tenenbaum A, Fisman EZ, Boyko V, Benderly M, Tanne D, Haim M, et al. Attenuation of progression of insulin resistance in patients with coronary artery disease by bezafibrate. *Arch Intern Med* 2006, 166:737–741.
578. Tenenbaum H, Behar S, Boyko V, Adler Y, Fisman EZ, Tanne D, et al. Longterm effect of bezafibrate on pancreatic beta-cell function and insulin resistance in patients with diabetes. *Atherosclerosis* 2007, 194:265–271.
579. Teramoto T, Shirai K, Daida H, Yamada N. Effects of bezafibrate on lipid and glucose metabolism in dyslipidemic patients with diabetes: the J-BENEFIT study. *Cardiovasc Diabetol* 2012, 11:29.
580. Chan DC, Watts GF, Gan SK, Ooi EM, Barrett PH. Effect of ezetimibe on hepatic fat, inflammatory markers, and apolipoprotein B-100 kinetics in insulin-resistant obese subjects on a weight loss diet. *Diabetes Care*. 2010 May;33(5):1134-9.
581. Buchanan TA. (How) Can we prevent type 2 diabetes? *Diabetes*. 2007; 56:1502–7.
582. Xiang AH, Peters RK, Kjos SL, Marroquin A, Goico J, Ochoa C, et al. Effect of pioglitazone on pancreatic beta-cell function and diabetes risk in Hispanic women with prior gestational diabetes. *Diabetes*. 2006 Feb; 55(2):517-22.
583. DeFronzo RA, Tripathy D, Schwenke DC, Banerji M, Bray GA, Buchanan TA, et al; ACT NOW Study. Pioglitazone for diabetes prevention in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2011 Mar 24; 364 (12):1104-15.
584. Tokuno A, Hirano T, Hayashi T, Mori Y, Yamamoto T, Nagashima M, et al. The effects of statin and fibrate on lowering small dense LDL- cholesterol in hyperlipidemic patients with type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb*. 2007 Jun; 14(3):128-32.



585. Wagner AM, Jorba O, Bonet R, Ordonez-Llanos J, Pérez A. Efficacy of atorvastatin and gemfibrozil, alone and in low dose combination, in the treatment of diabetic dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jul;88(7):3212-7.
586. Singh U, Devaraj S, Jialal I, Siegel D. Comparison effect of atorvastatin (10 versus 80 mg) on biomarkers of inflammation and oxidative stress in subjects with metabolic syndrome. *Am J Cardiol.* 2008 Aug 1; 102(3):321-5.
587. de Graaf J , Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb.* 1991 Mar-Apr; 11(2):298-306.
588. de Graaf J , Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Identification of multiple dense LDL subfractions with enhanced susceptibility to in vitro oxidation among hypertriglyceridemic subjects. Normalization after clofibrate treatment. *Arterioscler Thromb.* 1993 May; 13(5):712-9.
589. Sánchez-Quesada JL, Estruch M., Benítez B., Ordonez-Llanos J. Electronegative LDL: a useful biomarker of cardiovascular risk?. *Clinical Lipidology*,2012; 7:3, 345-359
590. Sánchez-Quesada JL, Ota-Entraigas C, Franco M, Jorba O, González-Sastre F, Blanco-Vaca F, et al. Effect of simvastatin treatment on the electronegative low-density lipoprotein present in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 1999 Sep 15;84(6):655-9.

#### PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS:

591. Antonopoulos AS, Margaritis M, Lee R, Channon K, Antoniades C. Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms and lessons from the recent clinical trials. *Curr Pharm Des.* 2012;18(11):1519-30.
592. Gómez-Gerique JA, Ros E, Olivan J, Mostaza JM, Vilardell M, Pinto X, et al ; ATOMIX Investigators. Effect of atorvastatin and bezafibrate on plasma levels of C-reactive protein in combined (mixed) hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2002 Jun; 162(2):245-51.
593. Plenge JK, Hernandez TL, Weil KM, Poirier P, Grunwald GK, Marcovina SM, et al. Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction. *Circulation.* 2002 Sep 17; 106(12):1447-52.

594. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation*. 2001 Apr 17;103(15):1933-5.
595. Bloomgarden ZT. Second world congress on the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2005; 28:2073–80.
596. Coban E, Sari R. The effect of fenofibrate on the levels of high sensitivity C reactive protein in dyslipidemic obese patients. *Endocr Res* 2004; 30:343–9.
597. Pearson TA, Ballantyne CM, Veltri E, Shah A, Bird S, Lin J, et al. Pooled analyses of effects on C-reactive protein and low density lipoprotein cholesterol in placebo-controlled trials of ezetimibe monotherapy or ezetimibe added to baseline statin therapy. *Am J Cardiol* 2009;103:369–374
598. Ballantyne CM, Weiss R, Moccetti T, Vogt A, Eber B, Sosef F, et al. Efficacy and safety of rosuvastatin 40 mg alone or in combination with ezetimibe in patients at high risk of cardiovascular disease (results from the EXPLORER study). *Am J Cardiol*. 2007 Mar 1;99(5):673-80.
599. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The effect of simvastatin-ezetimibe combination therapy on adipose tissue hormones and systemic inflammation in patients with isolated hypercholesterolemia. *Cardiovasc Ther*. 2014 Apr; 32(2):40-6.

#### CARACTERISTICAS DE LAS HDL

600. Schaefer JR, Schweer H, Ikewaki K, Stracke H, Seyberth HJ, Kaffarnik H, et al. Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG-CoA reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1999; 144:177–184.
601. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, et al. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR $\alpha$  and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest* 2001, 107:1423–1432
602. Morrone D, Weintraub WS, Toth PP, Hanson ME, Lowe RS, Lin J, et al. Lipid-altering efficacy of ezetimibe plus statin and statin monotherapy and identification of factors associated with treatment response: a pooled analysis of over 21,000 subjects from 27 clinical trials. *Atherosclerosis*. 2012 Aug;223(2):251-61.

603. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998;98:2088–2093
604. Schonfeld G. The effects of fibrates on lipoprotein and hemostatic coronary risk factors. *Atherosclerosis* 1994 Dec; 111(2):161-74.
605. Watts GF, Barrett PH, Ji J, Serone AP, Chan DC, Croft KD, et al. Differential regulation of lipoprotein kinetics by atorvastatin and fenofibrate in subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes* 2003; 52:803–811.
606. Chapman MJ, Orsoni A, Robillard P, Therond P, Giral P. Duality of statin action on lipoprotein subpopulations in the mixed dyslipidemia of metabolic syndrome: Quantity vs quality over time and implication of CETP. *J Clin Lipidol.* 2018 May - Jun; 12(3):784-800.
607. Berthold HK, Rizzo M, Spenrath N, Montalto G, Krone W, Gouni-Berthold I. Effects of lipid-lowering drugs on high-density lipoprotein subclasses in healthy men—a randomized trial. *PLoS One.* 2014 Mar 24;9(3):e91565.
608. Caslake MJ, Stewart G, Day SP, Daly E, McTaggart F, Chapman MJ, et al. Phenotype-dependent and-independent actions of rosuvastatin on atherogenic lipoprotein subfractions in hyperlipidaemia. *Atherosclerosis* 2003; 171:245–253.
609. Guérin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia: preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:189–197.
610. Guérin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Turpin G, Chapman MJ. Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:763–772.
611. Le Goff W, Guerin M, Chapman MJ. Pharmacological modulation of cholesterol ester transfer protein, a new therapeutic target in atherogenic dyslipidemia. *Pharmacol Ther* 2004; 101:17–38.
612. Guérin M, Le Goff W, Frisdal E, Schneider S, Milosavljevic D, Bruckert E, et al. Action of ciprofibrate in type IIb hyperlipoproteinemia: modulation of the atherogenic

- lipoprotein phenotype and stimulation of high-density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:3738–3746.
613. Eren E, Yilmaz N, Aydin O. Functionally defective high-density lipoprotein and paraoxonase: a couple for endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Cholesterol*. 2013;2013:792090.
614. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, Bairaktari E, Chapman MJ, Elisaf M, et al. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 2003; 44:927-34.
615. Masana L, Cabré A, Heras M, Amigó N, Correig X, Martínez-Hervás S, et al. Remarkable quantitative and qualitative differences in HDL after niacin or fenofibrate therapy in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2015 Feb;238(2):213-9.
616. Sahebkar A, Hernández-Aguilera A, Abelló D, Sancho E, Camps J, Joven J. Systematic review and meta-analysis deciphering the impact of fibrates on paraoxonase-1 status. *Metabolism*. 2016 May;65(5):609-22.
617. Ferretti G, Bacchetti T, Sahebkar A. Effect of statin therapy on paraoxonase-1 status: A systematic review and meta-analysis of 25 clinical trials. *Prog Lipid Res*. 2015 Oct;60:50-73.
618. ES Nakou , TD Filippatos , DN Kiortsis , CS Derdemezis , AD Tselepis ,DP Mikhailidis et al. The effects of ezetimibe and orlistat, alone or in combination, on high-density lipoprotein (HDL) subclasses and HDL-associated enzyme activities in overweight and obese patients with hyperlipidaemia. *Expert Opin. Pharmacother.* (2008) 9(18):3151-3158
619. Winkler K, Abletshauser C, Friedrich I, Hoffmann MM, Wieland H, März W. Fluvastatin slow-release lowers platelet-activating factor acetyl hydrolase activity: a placebo-controlled trial in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Mar; 89(3):1153-9.
620. Kom GD, Schwedhelm E, Maas R, Schneider L, Benndorf R, Böger RH. Impact of atorvastatin treatment on platelet-activating factor acetylhydrolase and 15-F(2trans)-isoprostane in hypercholesterolaemic patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2007 Jun; 63(6):672-9..

621. Tsimihodimos, V., A. Kakafika, A. P. Tambaki, E. Bairaktari, M. J. Chapman, M. Elisaf, et al. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J. Lipid Res.* 2003;44:927–934
622. Singh U, Devaraj S, Jialal I, Siegel D. Comparison effect of atorvastatin (10 versus 80 mg) on biomarkers of inflammation and oxidative stress in subjects with metabolic syndrome. *Am J Cardiol.* 2008 Aug 1; 102(3):321-5.
623. Baldi S, Frascerra S, Ferrannini E, Natali A. LDL resistance to oxidation: effects of lipid phenotype, autologous HDL and alanine. *Clin Chim Acta.* 2007 Apr; 379(1-2):95-100.
624. de Man FH, de Beer F, van der Laarse A, Jansen H, Leuven JA, Souverein JH, et al. The hypolipidemic action of bezafibrate therapy in hypertriglyceridemia is mediated by upregulation of lipoprotein lipase: no effects on VLDL substrate affinity to lipolysis or LDL receptor binding. *Atherosclerosis.* 2000 Dec;153(2):363-71.
625. Yasuhara M, Suzumura K, Tanaka K, Takahashi M, Aoki S, Odawara A, et al. Fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, protects LDL from oxidative modification in hypercholesterolemic rabbits. *Biol Pharm Bull.* 2000 May; 23(5):570-4.
626. Portal VL, Moriguchi EH, Vieira J, Schio S, Mastalir ET, Buffé F, et al. Comparison of the effect of two HMG CoA reductase inhibitors on LDL susceptibility to oxidation. *Arq Bras Cardiol.* 2003 Feb; 80(2):156-61, 150-5.
627. Hussein O, Minasian L, Itzkovich Y, Shestatski K, Solomon L, Zidan J. Ezetimibe's effect on platelet aggregation and LDL tendency to peroxidation in hypercholesterolaemia as monotherapy or in addition to simvastatin. *Br J Clin Pharmacol.* 2008 May; 65(5):637-45.
628. Iida KT, Kawakami Y, Suzuki M, Shimano H, Toyoshima H, Sone H, et al. Effect of thiazolidinediones and metformin on LDL oxidation and aortic endothelium relaxation in diabetic GK rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jun;284(6):E1125-30.

**ANEXO TABLAS CORRELACIONES  
DE LOS ESTUDIOS**



# **CORRELACIONES ESTUDIO TRANSVERSAL**





TABLA 1. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>cHDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>cLDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Edad</b>	0,100	0,035	0,052	0,090	0,028	0,041	0,137	-0,088	-0,031
<b>Talla</b>	-0,121	0,043	- 0,163	0,007	-0,122	-0,165	0,103	0,142	-0,107
<b>Peso</b>	-0,036	0,258*	-0,221*	0,020	-0,129	-0,186	0,186	0,029	0,104
<b>Cintura</b>	-0,097	0,253*	-0,284*	-0,023	-0,168	-0,334*	0,204	-0,015	0,163
<b>IMC</b>	-0,008	0,261*	-0,117	0,024	- 0,120	-0,130	0,130	-0,075	0,217**
<b>Insulina</b>	-0,119	0,428*	-0,298*	-0,045	-0,178**	-0,160	0,077	-0,090	0,401*
<b>HbA1c</b>	0,105	0,038	-0,011	0,108	0,054	0,171**	0,016	-0,010	0,129

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística TGs: triglicéridos

TABLA 2. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS ANTROPOMÉTRICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Edad</b>	-0,103	0,009	-0,137	0,097	-0,263*	-0,048	0,132	0,263*
<b>Talla</b>	-0,308*	-0,036	0,023	0,008	0,350*	0,160	-0,280*	-0,068
<b>Peso</b>	-0,166	0,065	-0,111	-0,075	0,276*	-0,126	0,179	-0,100
<b>Cintura</b>	-0,111	0,135	-0,010	-0,031	0,260*	-0,324	0,174	-0,377*
<b>IMC</b>	0,024	0,071	-0,107	-0,097	0,035	-0,268	0,444*	-0,060
<b>Insulina</b>	0,113	0,205*	-0,158	0,156	0,092	-0,401*	0,213*	-0,283*
<b>HbA1c</b>	0,001	-0,008	0,068	0,138	0,164	0,113	0,161	0,024

\*Significación estadística    \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 3. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS.

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Colesterol total</b>	0,042	0,093	-0,119	0,051	-0,041	0,373**	0,132	0,175**
<b>Triglicéridos</b>	-0,086	0,042	0,010	0,095	0,021	0,056	0,062	-0,222*
<b>cHDL</b>	-0,111	-0,158	-0,030	-0,174 **	-0,005	0,014	0,104	0,282*
<b>Colesterol no HDL</b>	0,069	0,134	-0,112	0,096	-0,040	0,372**	0,106	0,104
<b>cLDL</b>	0,104	0,102	-0,133	0,062	-0,076	0,262	0,076	0,215*
<b>Lp (a)</b>	-0,008	-0,060	0,049	-0,087	-0,001	-0,055	-0,035	0,082
<b>cVLDL</b>	-0,027	0,037	0,023	0,063	-0,004	0,280	0,080	-0,097
<b>Apo B</b>	0,141	-0,051	0,071	0,227*	-0,006	0,409*	-0,029	0,121
<b>NEFA</b>	-0,011	0,067	0,045	0,134	-0,028	-0,011	0,010	-0,222*

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 4. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Edad</b>	-0,103	0,132	0,129
<b>Talla</b>	-0,081	-0,134	-0,275*
<b>Peso</b>	-0,192	-0,070	-0,154
<b>Cintura</b>	-0,175	-0,148	-0,205
<b>IMC</b>	-0,177	-0,026	-0,041
<b>Insulina</b>	-0,163	-0,136	0,030
<b>HbA1c</b>	-0,077	0,144	0,085

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 5. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs- PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICO GENERALES

	<b>Tamaño LDL</b>	<b>LDL negativa</b>	<b>LDL oxidada</b>
<b>Colesterol Total</b>	0,027	0,212*	0,363*
<b>Triglicéridos</b>	-0,573*	-0,027	0,164
<b>cHDL</b>	0,488*	0,010	0,059
<b>c No HDL</b>	-0,097	0,210*	0,349*
<b>cLDL</b>	0,297*	0,190**	0,258*
<b>Lp (a)</b>	0,203*	0,698*	0,141
<b>cVLDL</b>	-0,473*	0,042	0,171**
<b>Apo B</b>	-0,038	0,131	0,007
<b>NEFA</b>	-0,359*	-0,065	0,156

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 6. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS PARAMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS.

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Tamaño LDL</b>	-0,045	-0,053	-0,012	0,055	-0,125	-0,058	-0,019	0,177 **
<b>LDL negativa</b>	0,015	-0,014	-0,042	0,021	0,042	0,125	-0,059	0,061
<b>LDL oxidada</b>	0,166	0,067	-0,183**	0,042	-0,130	0,407*	0,330*	0,015

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 7. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS vs TAMAÑO LDLS

	LDL NEGATIVA	LDL OXIDADA
<b>TAMAÑO LDL</b>	-0,026	-0,110

TABLA 8. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

	Edad	Talla	Peso	Cintura	IMC	Insulinemia	HbA1c
<b>Apo A-I</b>	0,000	-0,020	-0,120	-0,189	-0,106	-0,210*	-0,052
<b>Apo A-II</b>	-0,040	-0,156	-0,153	-0,225	0,024	0,071	0,026
<b>HDL- Col</b>	-0,011	0,090	-0,135	-0,175	-0,247**	-0,305*	-0,021
<b>HDL-Tg</b>	0,125	-0,017	0,188	0,132	0,192	0,238*	0,077
<b>HDL-Fos</b>	-0,029	0,048	0,036	-0,029	0,002	0,125	0,073
<b>HDL-NEFA</b>	0,158	-0,291*	-0,119	-0,144	0,053	0,310*	-0,047
<b>HDL A-I</b>	0,005	-0,122	-0,022	0,121	0,083	-0,049	-0,020
<b>HDL A-II</b>	-0,037	0,065	-0,021	-0,089	-0,063	0,022	-0,055
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,281*	0,166	0,200	0,220**	0,093	0,014	-0,149
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,131	0,162	0,182	0,282*	0,099	0,117	0,023
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,058	0,022	0,016	0,099	0,040	0,117	0,160
<b>PON 1</b>	0,191	-0,095	-0,076	-0,063	-0,068	-0,081	0,056
<b>▲ Lag Phase</b>	0,042	0,200	-0,009	-0,156	-0,144	-0,112	0,052
<b>Inhib. Rf</b>	-0,018	-0,008	-0,017	-0,018	0,041	-0,044	0,051

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



TABLA 9-A. CORRELACIONES PARÁMETROS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (I)

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Apo A-I</b>	0,144	-0,145	0,607*	-0,007	0,069	0,121	-0,066	-0,114	-0,069
<b>Apo A-II</b>	0,025	0,035	0,479*	-0,090	-0,085	0,058	-0,038	-0,127	0,165
<b>HDL A-I</b>	-0,161	-0,213**	0,237*	-0,219*	-0,011	-0,133	-0,300*	-0,120	-0,138
<b>HDL A-II</b>	-0,065	-0,005	-0,295*	0,006	-0,006	-0,127	0,032	0,023	-0,024
<b>HDL-Col</b>	0,282*	-0,472*	0,461*	0,172	0,379*	0,277*	-0,211**	0,171	-0,325*
<b>HDL-Tg</b>	-0,012	0,822*	-0,558*	0,122	-0,395*	-0,007	0,601*	0,029	0,544*
<b>HDL-Fos</b>	0,153	0,181	0,027	0,147	-0,001	0,192**	0,221*	0,023	0,152
<b>HDL-NEFA</b>	0,140	0,377*	-0,269*	0,205**	-0,007	0,151	0,220*	-0,072	0,418*

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 9-B. CORRELACIONES PARÁMETROS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (II)

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,364*	0,013	-0,246*	0,425*	0,420*	0,044	0,070	0,117	-0,036
<b>HDL PAF-AH</b>	0,285*	0,145	-0,223*	0,341*	0,219*	-0,015	0,201*	0,117	0,041
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,125	0,161	0,089	-0,147	-0,275*	-0,023	0,132	-0,019	0,101
<b>PON 1</b>	-0,013	-0,030	-0,110	0,014	0,069	-0,012	-0,081	0,006	0,044
<b>▲ Lag Phase</b>	0,218*	0,052	-0,148	0,256*	0,163**	0,165**	0,179**	0,248*	-0,080
<b>Inhib. Rf</b>	0,032	0,106	-0,153	0,071	0,042	0,105	0,007	0,191**	0,128

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 10-A. CORRELACIÓN CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARAMETROS INFLAMATORIOS CITOQUINAS (I)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Apo A-I</b>	-0,048	-0,173	-0,051	0,096	-0,057	0,011	0,124	0,231*
<b>Apo A-II</b>	-0,071	-0,136	0,056	-0,125	0,008	-0,057	0,077	-0,083
<b>HDL-Col</b>	-0,038	0,031	0,104	0,104	0,072	0,446	-0,139	0,259*
<b>HDL-Tg</b>	-0,054	0,122	0,057	0,041	-0,015	-0,539**	0,040	-0,303*
<b>HDL-Fos</b>	0,027	-0,124	0,176	0,079	0,032	-0,484	0,032	-0,179
<b>HDL-NEFA</b>	-0,006	-0,114	0,021	0,089	-0,155	-0,610*	-0,044	-0,238*
<b>HDL A-I</b>	0,141	-0,032	-0,120	-0,116	-0,040	0,160	0,112	0,240*
<b>HDL A-II</b>	-0,148	0,061	-0,075	0,004	-0,007	0,254	-0,105	-0,151

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 10-B. CORRELACIÓN CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARAMETROS INFLAMATORIOS CITOQUINAS (II)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,152	-0,018	0,080	-0,001	0,098	0,103	-0,130	-0,168 **
<b>HDL PAF-AH</b>	0,131	0,032	0,042	-0,009	0,050	0,054	-0,104	-0,154
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,005	0,004	0,063	-0,063	-0,062	-0,014	0,028	-0,073
<b>PON 1</b>	-0,195 **	0,212*	-0,064	-0,077	-0,099	-0,017	-0,067	-0,020
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,030	-0,015	0,083	0,109	0,065	0,429*	-0,172 **	-0,001
<b>Inhib. Rf</b>	-0,009	-0,068	0,168 **	-0,052	0,044	-0,095	-0,097	-0,046

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 11. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS MODIFICACIONES LDLS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL Oxidada
<b>Apo A-I</b>	0,182**	0,001	0,272*
<b>Apo A-II</b>	0,154	-0,023	0,027
<b>HDL-Col</b>	0,272*	0,139	-0,049
<b>HDL-Tg</b>	-0,693*	0,130	0,105
<b>HDL-Fos</b>	-0,197**	0,139	-0,012
<b>HDL-NEFA</b>	-0,206**	0,054	0,104
<b>HDL A-I</b>	0,273*	-0,132	0,000
<b>HDL A-II</b>	-0,010	-0,077	-0,013
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,057	0,074	-0,165
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,113	0,141	-0,073
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,056	0,110	0,060
<b>PON 1</b>	0,022	0,080	0,145
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,301*	0,148	-0,021
<b>Inhib.Rf</b>	-0,159	0,085	0,116

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

# **CORRELACIONES ESTUDIO LONGITUDINAL**



**CORRELACIONES ENTRE PARÁMETROS INICIALES EN EL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)**

TABLA 12. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS VS LIPÍDICOMETABÓLICOS GENERALES.

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Edad</b>	-0,062	-0,008	0,016	-0,068	-0,045	0,115	-0,005	-0,016	0,036
<b>Talla</b>	-0,146	-0,089	-0,105	-0,132	-0,125	-0,252**	-0,056	-0,194	-0,104
<b>Peso</b>	-0,001	0,006	-0,031	0,008	0,027	-0,078	-0,034	0,023	0,106
<b>Cintura</b>	-0,045	-0,015	-0,153	-0,005	0,025	-0,265**	-0,029	0,037	0,143
<b>IMC</b>	0,108	0,108	0,014	0,112	0,060	0,053	0,060	0,123	0,172
<b>Insulina</b>	-0,068	0,220	-0,225**	-0,026	-0,084	-0,286*	0,096	0,127	0,198
<b>HbA1c</b>	-0,084	-0,112	-0,004	-0,087	0,091	0,127	-0,080	0,078	0,155

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



TABLA 13. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS ANTROPOMÉTRICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Edad</b>	0,083	0,075	-0,066	-0,036	-0,129	-0,136	0,025	0,320*
<b>Talla</b>	-0,295*	-0,056	0,119	0,076	0,289*	0,228	-0,432*	-0,101
<b>Peso</b>	-0,067	-0,124	-0,025	-0,046	0,131	-0,268	0,120	-0,298*
<b>Cintura</b>	0,017	-0,068	-0,087	0,004	0,157	-0,306	0,213	-0,549*
<b>IMC</b>	0,134	0,000	.0,181	-0,185	-0,046	-0,425**	0,385*	-0,234
<b>Insulinemia</b>	0,147	0,224	-0,087	-0,118	0,100	-0,331	0,486*	-0,207
<b>HbA1c</b>	0,000	0,056	-0,119	0,008	-0,103	-0,039	0,125	0,131

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 14. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS LIPIDICO-METABÓLICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Colesterol total</b>	-0,033	-0,029	-0,077	0,280*	0,015	0,230	0,256**	0,068
<b>Triglicéridos</b>	-0,228**	-0,034	-0,053	0,127	-0,108	-0,008	0,078	-0,055
<b>cHDL</b>	0,006	-0,031	-0,233**	-0,127	0,038	0,028	0,105	0,211
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,036	-0,024	-0,034	0,318*	0,008	0,241	0,247**	0,029
<b>cLDL</b>	0,161	-0,023	-0,054	0,035	0,071	0,220	0,322*	0,064
<b>Lp (a)</b>	-0,065	-0,215	-0,102	-0,139	-0,206	-0,196	-0,045	0,165
<b>cVLDL</b>	-0,131	0,002	-0,011	0,300*	-0,025	-0,001	0,035	-0,023
<b>Apo B</b>	0,180	-0,013	-0,085	0,177	0,082	0,297	0,402*	0,024
<b>NEFA</b>	0,012	0,191	-0,127	0,132	-0,084	0,164	0,364*	-0,052

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 15. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
Edad	-0,117	-0,025	0,062
Talla	0,020	-0,029	-0,048
Peso	0,016	-0,036	-0,040
Cintura	-0,096	-0,293**	0,111
IMC	-0,052	0,165	0,061
Insulina	-0,232**	-0,272**	0,100
HbA1c	0,041	-0,230	0,209

\*\* Tendencia a significación estadística

TABLA 16. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS TAMAÑO LDL

	LDL NEGATIVA	LDL OXIDADA
TAMAÑO LDL	0,090	-0,078

TABLA 17. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs- PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Colesterol Total</b>	0,059	0,388*	0,309*
<b>Triglicéridos</b>	-0,560*	0,234	0,133
<b>cHDL</b>	0,551*	0,122	0,163
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,049	0,387*	0,291*
<b>cLDL</b>	0,466*	-0,194	0,163
<b>Lp (a)</b>	0,313*	0,438*	-0,019
<b>cVLDL</b>	-0,440*	0,471*	0,250*
<b>Apo B</b>	0,100	-0,264**	0,207
<b>NEFA</b>	-0,386*	-0,173	0,141

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 18. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs VS PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS.

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Tamaño LDL</b>	0,004	-0,007	0,004	-0,009	0,050	0,083	-0,024	0,163
<b>LDL negativa</b>	-0,082	-0,105	-0,105	0,035	-0,043	-0,365	-0,159	0,193
<b>LDL oxidada</b>	0,098	0,029	-0,273*	0,169	-0,036	0,170	0,200	-0,014

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 19-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (I)

	Edad	Talla	Peso	Cintura	IMC	Insulinemia	HbA1c
<b>Apo A-I</b>	-0,070	0,068	0,007	-0,102	-0,081	-0,144	-0,139
<b>Apo A-II</b>	-0,199	0,061	-0,053	-0,060	0,075	0,044	-0,100
<b>HDL- Col</b>	-0,052	0,096	0,325**	0,234	0,206	-0,057	-0,114
<b>HDL-Tg</b>	0,204	-0,177	-0,289	-0,298	-0,059	0,202	-0,008
<b>HDL-Fos</b>	0,214	-0,201	-0,121	-0,083	0,147	0,125	0,189
<b>HDL-NEFA</b>	0,105	-0,279**	-0,390*	-0,288	-0,001	-0,070	0,080
<b>HDL A-I</b>	-0,025	0,086	0,013	0,081	-0,216	-0,192	0,070
<b>HDL A-II</b>	-0,376*	0,155	0,060	-0,026	0,108	0,114	-0,289**

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 19-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (II)

	Edad	Talla	Peso	Cintura	IMC	Insulina	HbA1c
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,314*	0,263**	0,158	0,185	-0,056	-0,130	-0,189
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,275*	0,241**	0,211	0,179	-0,032	-0,015	0,056
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,095	0,033	0,188	0,104	0,076	0,132	0,189
<b>PON 1</b>	0,325*	-0,148	-0,175	-0,093	0,037	0,379*	0,182
<b>▲ Lag Phase</b>	0,075	0,057	0,052	-0,033	0,012	0,030	-0,045
<b>Inhib. Rf</b>	-0,207	0,186	0,213	0,110	0,049	0,053	0,014

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 20-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (I)

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Apo A-I</b>	0,177	-0,110	0,450*	0,095	0,243**	0,237**	-0,085	0,234**	0,007
<b>Apo A-II</b>	0,323*	0,131	0,415*	0,256**	0,160	0,086	0,114	0,153	0,091
<b>HDL-Col</b>	0,127	-0,465*	0,242	0,092	0,613*	0,217	-0,368*	0,434*	-0,055
<b>HDL-Tg</b>	0,041	0,777*	-0,541*	0,136	-0,682*	-0,130	0,643*	-0,357*	0,136
<b>HDL-Fos</b>	-0,267	0,115	-0,293**	-0,231	-0,315**	0,088	0,066	-0,209	-0,129
<b>HDL-NEFA</b>	0,273**	0,510*	-0,142	0,312**	-0,441*	0,121	0,599*	-0,227	-0,079
<b>HDL A-I</b>	-0,001	-0,288**	0,415*	-0,072	0,189	-0,061	-0,228	-0,001	0,084
<b>HDL A-II</b>	0,192	0,213	-0,236	0,243	0,025	-0,092	0,175	0,172	-0,079

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 20-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (II)

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,172	-0,115	-0,051	0,190	0,239**	-0,024	-0,012	0,181	-0,109
<b>HDL PAF-AH</b>	0,305*	0,131	-0,079	0,335*	0,025	-0,101	0,303*	0,025	0,077
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,168	0,239**	-0,013	0,178	-0,186	-0,043	0,321*	-0,152	0,196
<b>PON 1</b>	-0,407*	-0,120	-0,236**	-0,379*	-0,129	-0,119	-0,188	-0,094	-0,008
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,059	0,002	-0,148	-0,033	0,036	0,130	-0,014	0,067	-0,065
<b>Inhib. Rf</b>	-0,087	0,126	-0,330*	-0,027	0,023	0,054	-0,042	0,035	0,090

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



TABLA 21-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS INFLAMACIÓN-CITOQUINAS (I)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Apo A-I</b>	0,061	-0,099	-0,185	0,241**	-0,010	0,008	0,077	0,252**
<b>Apo A-II</b>	-0,079	0,244**	-0,146	-0,158	0,393*	-0,005	0,191	-0,029
<b>HDL-Col</b>	0,418*	-0,006	0,047	0,018	-0,031	0,183	0,079	-0,024
<b>HDL-Tg</b>	-0,331*	0,081	0,002	0,129	-0,094	-0,089	-0,089	0,160
<b>HDL-Fos</b>	0,091	0,075	-0,290**	-0,005	0,055	-0,163	-0,021	-0,151
<b>HDL-NEFA</b>	0,007	0,006	-0,221	0,159	-0,121	-0,219	-0,188	-0,267
<b>HDL A-I</b>	-0,144	-0,090	0,146	-0,110	-0,025	0,178	0,081	0,120
<b>HDL A-II</b>	0,081	0,024	0,027	0,103	0,103	-0,222	-0,144	-0,179

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 21-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS INFLAMACIÓN-CITOQUINAS (II)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,175	-0,112	0,260**	0,020	0,206	0,158	-0,096	-0,143
<b>HDL PAF-AH</b>	0,041	0,058	0,290*	0,174	0,275*	0,040	-0,025	-0,011
<b>%HDL PAF-AH</b>	-0,124	0,137	0,153	0,150	0,124	-0,134	0,068	0,070
<b>PON 1</b>	-0,158	0,211	-0,048	-0,255**	0,159	-0,071	0,126	0,032
<b>▲ Lag Phase</b>	0,096	-0,098	0,091	0,081	-0,073	0,279	-0,125	-0,039
<b>Inhib. Rf</b>	-0,052	-0,056	0,237 **	-0,175	-0,072	-0,110	-0,100	-0,150

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 22. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS MODIFICACIONES LDLS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL Oxidada
<b>Apo A-I</b>	0,171	-0,054	0,265*
<b>Apo A-II</b>	0,151	0,223	0,249**
<b>HDL-Col</b>	0,380*	0,104	-0,112
<b>HDL-Tg</b>	-0,581*	0,333*	0,078
<b>HDL-Fos</b>	-0,110	0,074	-0,021
<b>HDL-NEFA</b>	-0,220	0,224	0,259
<b>HDL A-I</b>	0,205	-0,335*	-0,018
<b>HDL A-II</b>	-0,131	0,204	0,110
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,135	0,272**	-0,118
<b>HDL PAF-AH</b>	0,076	0,329*	-0,004
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,008	0,087	0,060
<b>PON 1</b>	-0,136	-0,246	-0,090
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,284*	0,128	-0,048
<b>Inhib. Rf</b>	-0,233**	0,040	-0,234**

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

**CORRELACIONES ENTRE PARÁMETROS INICIALES y FINALES EN EL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)**

TABLA 23. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (iniciales) VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (finales)

<b>FINAL → INICIAL</b>	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Edad</b>	-0,001	-0,043	0,146	.0,048	-0,009	0,105	-0,097	-.0,019	-0,049
<b>Talla</b>	-0,054	0,062	-0,187	0,005	-0,042	-0,268*	0,054	-0,008	-0,037
<b>Peso</b>	-0,120	0,198	-0,179	-0,054	-0,135	-0,074	0,196	-0,045	0,058
<b>Cintura</b>	-0,126	0,233	-0,317*	-0,004	-0,096	-0,244	0,259**	0,050	0,063
<b>IMC</b>	-0,041	0,191	-0,112	0,001	-0,060	0,059	0,179	-0,007	0,190
<b>Insulina</b>	0,002	0,187	-0,259**	0,087	0,122	-0,262**	0,033	0,227**	0,175
<b>HbA1c</b>	-0,140	-0,116	-0,042	-0,131	-0,054	0,160	-0,170	-0,097	-0,071

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 24. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (iniciales) VS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (finales)

FINAL → INICIAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
Edad	-0,109	-0,030	-0,152	-0,033	-0,105	-0,154	0,027	0,269**
Talla	-0,243 **	-0,022	0,089	-0,028	-0,015	0,223	-0,413*	-0,103
Peso	0,020	-0,052	0,222	-0,097	-0,192	-0,372	0,315*	-0,226
Cintura	0,084	-0,019	0,247	0,011	-0,226	-0,433**	0,320*	-0,386*
IMC	0,201	-0,030	0,088	-0,063	-0,093	-0,527*	0,542*	-0,148
Insulina	0,160	0,109	0,027	0,221	-0,055	-0,562*	0,419*	-0,322*
HbA1c	0,138	0,050	0,069	0,080	-0,043	-0,010	0,024	0,277*

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 25. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (iniciales) VS MODIFICACIONES LDLs ( finales).

FINAL → INICIAL	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
Edad	-0,041	-0,109	-0,112
Talla	0,056	-0,119	-0,096
Peso	-0,084	0,040	-0,242
Cintura	-0,146	-0,098	-0,035
IMC	-0,192	0,025	-0,179
Insulina	-0,274*	-0,358*	-0,028
HbA1c	0,007	-0,007	0,095

\*Significación estadística

TABLA 26. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales).

<b>INICIAL → FINAL</b>	<b>Edad</b>	<b>Talla</b>	<b>Peso</b>	<b>Cintura</b>	<b>IMC</b>	<b>Insulina</b>	<b>HbA1c</b>
<b>Apo A-I</b>	0,155	-0,165	-0,233	-0,352*	-0,186	-0,237**	-0,046
<b>Apo A-II</b>	0,309*	-0,233	-0,321*	-0,359*	0,027	0,091	0,088
<b>HDL- Col</b>	-0,172	0,158	0,134	0,081	-0,020	-0,129	-0,093
<b>HDL-Tg</b>	0,016	0,082	0,117	0,087	0,071	-0,071	0,032
<b>HDL-Fos</b>	0,056	0,109	-0,048	-0,015	-0,026	-0,116	0,123
<b>HDL-NEFA</b>	0,389*	-0,327*	-0,441*	-0,286	-0,103	-0,037	0,116
<b>HDL A-I</b>	-0,035	0,089	0,215	0,177	0,136	-0,011	-0,071
<b>HDL A-II</b>	0,035	-0,138	-0,558*	-0,456*	-0,267	0,094	0,004
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,280*	0,270*	0,368*	0,232	0,079	0,085	-0,324*
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,389*	0,151	0,173	0,115	0,031	0,086	-0,223
<b>% HDL PAF- AH</b>	-0,129	-0,114	-0,205	-0,237	0,029	0,028	0,069
<b>PON 1</b>	0,090	-0,125	-0,148	-0,151	0,033	0,219	0,031
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,138	0,162	0,099	-0,021	-0,042	0,014	-0,027
<b>Inhib. Rf</b>	-0,265*	0,102	0,296*	0,268**	0,215	0,108	0,155

\*Significación estadística \*\* Tendencia a significación estadística

TABLA 27. CORRELACIONES PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICOS (iniciales) GENERALES VS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (finales).

FINAL → INICIAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Colesterol total</b>	-0,019	-0,008	0,054	-0,083	0,070	0,335	0,367*	0,083
<b>Triglicéridos</b>	-0,291*	-0,051	0,015	-0,104	-0,039	-0,147	-0,070	-0,120
<b>cHDL</b>	0,049	-0,089	0,001	-0,156	-0,027	0,202	0,297*	0,208
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,029	0,016	0,056	-0,056	0,080	0,297	0,304*	0,045
<b>cLDL</b>	0,222	0,082	0,043	0,168	0,091	0,361**	0,345*	0,174
<b>Lp (a)</b>	0,044	-0,075	-0,239**	-0,205	-0,035	-0,100	0,151	0,361*
<b>cVLDL</b>	-0,203	-0,041	0,013	-0,109	0,024	.0,132	-0,037	-0,066
<b>Apo B</b>	0,113	0,123	0,137	0,215	0,063	0,361**	0,324*	0,055
<b>NEFA</b>	-0,220	0,131	0,293*	0,073	-0,107	-0,073	0,142	-0,085

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 28. CORRELACIONES PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (iniciales) VS MODIFICACIONES LDLs (finales)

<b>FINAL → INICIAL</b>	<b>Tamaño LDL</b>	<b>LDL negativa</b>	<b>LDL oxidada</b>
<b>Colesterol Total</b>	-0,039	0,157	-0,020
<b>Triglicéridos</b>	-0,318*	-0,169	0,155
<b>cHDL</b>	0,282*	0,387*	-0,125
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,097	0,096	0,005
<b>cLDL</b>	0,193	0,135	-0,259**
<b>Lp (a)</b>	0,347*	0,738*	-0,051
<b>cVLDL</b>	-0,265*	-0,043	0,247**
<b>Apo B</b>	0,015	-0,071	-0,073
<b>NEFA</b>	-0,365*	-0,188	0,161

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



TABLA 29-A. CORRELACIONES LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales) (I)

INICIAL → FINAL	Colesterol total	TGs	HDL	Colesterol no HDL	LDL	Lp (a)	VLDL	Apo B	NEFA
<b>Apo A-I</b>	0,275*	-0,073	0,652*	0,158	0,223 **	0,185	-0,043	0,157	-0,014
<b>Apo A-II</b>	0,065	0,522*	-0,103	0,088	-0,348*	0,016	0,386*	-0,093	0,254 **
<b>HDL- Col</b>	0,142	-0,193	0,222	0,111	0,251	0,324*	-0,128	0,094	0,012
<b>HDL-Tg</b>	0,010	0,103	-0,220	0,048	-0,163	0,055	0,144	-0,159	0,016
<b>HDL-Fos</b>	-0,091	-0,011	-0,103	-0,078	-0,066	0,170	-0,069	-0,102	0,076
<b>HDL- NEFA</b>	-0,202	0,285*	-0,274 **	-0,166	-0,389*	0,089	0,158	-0,180	0,002
<b>HDL A-I</b>	-0,039	-0,087	0,047	-0,048	0,053	-0,052	-0,063	-0,151	0,013
<b>HDL A-II</b>	0,020	0,083	-0,008	0,022	-0,040	-0,131	0,072	0,115	-0,042

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 29-B. CORRELACIONES LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales) (II)

INICIAL → FINAL	Colesterol total	TGs	HDL	Colesterol no HDL	LDL	Lp (a)	VLDL	Apo B	NEFA
PAF-AH TOTAL	-0,015	0,086	-0,251**	0,034	-0,084	-0,043	0,098	-0,035	-0,016
HDL PAF-AH	0,059	0,116	-0,148	0,091	-0,086	-0,055	0,143	-0,167	0,060
% HDL PAF-AH	0,113	0,031	0,147	0,089	0,037	-0,058	0,035	-0,106	0,141
PON 1	-0,180	-0,024	-0,198	-0,149	-0,077	-0,046	-0,038	0,002	-0,049
▲Lag Phase	-0,180	-0,013	-0,191	-0,150	-0,066	0,020	-0,050	-0,058	-0,058
Inhib. Rf	-0,212	-0,065	-0,190	-0,183	-0,015	-0,036	-0,140	-0,038	0,022

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 30. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (iniciales) VS MODIFICACIONES LDLs (finales).

INICIAL → FINAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP-1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
Tamaño LDL	-0,003	-0,214	-0,224**	0,051	-0,110	0,303	-0,117	0,251**
LDL negativa	0,002	-0,125	-0,026	-0,050	-0,192	-0,077	-0,111	0,280**
LDL oxidada	0,286*	0,183	-0,146	0,201	-0,069	-0,430**	0,049	-0,209

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 31-A. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales) (I).

INICIAL → FINAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP-1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
Apo A-I	-0,173	-0,057	-0,173	-0,007	0,006	-0,024	0,056	0,367*
Apo A-II	-0,173	0,115	-0,151	-0,081	0,080	-0,018	-0,031	0,247**
HDL- Col	0,052	0,012	0,178	-0,011	-0,243	0,378	-0,036	-0,134
HDL-Tg	0,023	0,013	-0,089	0,050	-0,193	-0,611**	-0,205	-0,145
HDL-Fos	0,016	0,015	-0,029	-0,136	-0,435*	-0,276	-0,214	-0,368*
HDL-NEFA	0,059	-0,072	-0,315**	-0,102	-0,150	-0,386	-0,123	-0,136
HDL A-I	0,030	0,074	0,371*	-0,009	-0,246	0,487	-0,118	-0,089
HDL A-II	-0,037	-0,048	-0,207	0,056	0,386*	-0,427	0,182	0,244

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 31-B CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales) (II).

INICIAL → FINAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP-1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
PAF-AH TOTAL	0,012	-0,198	0,243**	-0,075	0,082	-0,319	-0,125	-0,111
HDL PAF-AH	-0,043	0,070	0,203	-0,089	-0,029	-0,160	0,005	-0,197
% HDL PAF-AH	-0,058	0,321*	-0,001	-0,050	-0,080	0,187	0,109	-0,037
PON 1	-0,023	0,159	0,023	-0,014	0,274*	-0,127	0,188	0,022
Lag Phase	0,044	-0,059	0,060	-0,091	-0,082	0,083	-0,141	-0,010
Inhib. Rf	0,002	-0,024	0,247**	-0,179	0,089	-0,334	-0,098	-0,185

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 32. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS (iniciales) VS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (finales)

FINAL → INICIAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP-1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
Tamaño LDL	0,140	-0,041	0,031	0,015	0,195	0,219	0,055	0,241**
LDL negativa	-0,045	-0,054	-0,075	-0,215	0,064	-0,285	0,038	0,290**
LDL oxidada	-0,031	0,020	-0,020	0,109	0,094	0,189	0,109	0,102

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 33. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs (iniciales) VS CARACTERÍSTICAS HDLS (finales) .

INICIAL → FINAL	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL Oxidada
Apo A-I	0,121	0,049	0,104
Apo A-II	-0,466*	0,260	0,197
HDL-Col	0,357*	0,179	-0,089
HDL-Tg	-0,010	0,337*	0,033
HDL-Fos	0,122	0,068	0,017
HDL-NEFA	-0,478*	0,028	0,049
HDL A-I	0,115	-0,048	0,196
HDL A-II	-0,194	-0,091	-0,088
PAF-AH TOTAL	-0,101	0,086	-0,261**
HDL PAF-AH	0,028	0,160	-0,283*
% HDL PAF-AH	0,169	0,157	-0,038
PON 1	-0,189	0,015	-0,134
▲ Lag Phase	-0,018	0,142	-0,115
Inhib. Rf	-0,057	-0,110	-0,075

\*Significación estadística

TABLA 34. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS (iniciales) VS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (finales)

FINAL → INICIAL	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
Apo A-I	-0,118	-0,124	0,188	-0,139	0,119	0,117	0,289*	0,193
Apo A-II	-0,078	0,030	0,100	-0,081	0,056	0,125	0,160	0,097
HDL-Col	0,334**	0,209	-0,040	-0,123	-0,123	-0,040	0,263	0,052
HDL-Tg	-0,336 **	0,093	-0,193	-0,023	0,012	-0,250	-0,182	0,017
HDL-Fos	0,208	-0,080	0,055	0,159	-0,377*	-0,540	-0,050	-0,011
HDL-NEFA	0,161	-0,154	-0,041	-0,113	-0,081	-0,502	-0,165	-0,172
HDL A-I	-0,195	-0,105	0,073	0,007	0,273	0,552	0,025	0,110
HDL A-II	0,105	0,031	-0,005	-0,081	0,038	-0,210	-0,086	-0,293**
PAF-AH TOTAL	0,012	0,037	-0,043	0,107	0,226	0,177	-0,163	-0,083
HDL PAF- AH	0,089	0,025	0,197	-0,040	0,206	0,051	-0,012	-0,106
%HDL PAF-AH	0,081	-0,019	0,303*	-0,146	0,015	-0,130	0,176	-0,117
PON 1	0,016	0,112	-0,125	0,102	-0,197	-0,204	0,038	-0,140
▲Lag Phase	0,231	-0,055	-0,205	0,032	-0,179	0,092	-0,079	-0,005
Inhib. Rf	0,229	0,027	-0,024	-0,011	-0,012	-0,315	0,031	0,002

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 35. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS (iniciales) VS MODIFICACIONES LDLs (finales).

<b>FINAL → INICIAL</b>	<b>Tamaño LDL</b>	<b>LDL negativa</b>	<b>LDL Oxidada</b>
<b>Apo A-I</b>	0,446*	0,268 **	0,238**
<b>Apo A-II</b>	-0,084	0,082	0,056
<b>HDL-Col</b>	-0,044	0,284**	-0,355*
<b>HDL-Tg</b>	-0,426*	-0,106	0,096
<b>HDL-Fos</b>	-0,001	-0,045	0,273
<b>HDL-NEFA</b>	-0,085	-0,084	0,434*
<b>HDL A-I</b>	0,261	-0,046	-0,046
<b>HDL A-II</b>	-0,111	-0,036	-0,003
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,125	0,174	-0,152
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,121	0,311*	0,000
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,010	0,309*	0,130
<b>PON 1</b>	-0,019	-0,250	-0,006
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,005	-0,031	-0,008
<b>Inhib. Rf</b>	-0,085	-0,044	-0,152

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



**CORRELACIONES ENTRE VARIACIONES DE PARÁMETROS (DELTAS) EN EL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)**

TABLA 36. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS-GENERALES

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Peso</b>	0,007	-0,183	-0,053	0,015	0,073	0,251**	-0,122	0,044	-0,203
<b>Cintura</b>	0,044	-0,046	0,000	0,046	0,022	0,175	0,000	-0,013	0,028
<b>IMC</b>	-0,003	-0,156	-0,073	0,008	0,052	0,250**	-0,091	0,027	-0,201
<b>Insulina</b>	-0,177	0,103	-0,200	-0,154	-0,171	-0,035	0,051	-0,196	-0,010
<b>HbA1c</b>	-0,075	-0,030	0,152	-0,096	0,016	0,023	-0,115	-0,109	0,010

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 37. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS CITOQUINAS VS ANTROPOMÉTRICOS

	<b>PCR</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>MCP -1</b>	<b>TGFb</b>	<b>GM-CSF</b>	<b>Leptina</b>	<b>Adiponectina</b>
<b>Peso</b>	0,134	-0,031	0,017	-0,041	-0,053	0,134	-0,167	0,038
<b>Cintura</b>	0,048	0,088	0,013	-0,193	-0,141	-0,174	-0,183	-0,024
<b>IMC</b>	0,146	-0,057	0,046	0,014	-0,043	0,199	-0,187	0,002
<b>Insulina</b>	0,054	0,003	0,099	-0,119	0,130	-0,323	0,180	0,145
<b>HbA1c</b>	-0,219	-0,025	-0,142	-0,113	-0,096	0,242	0,167	-0,151

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 38. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Colesterol total</b>	-0,023	0,013	-0,029	0,255**	0,002	-0,138	0,252 **	-0,083
<b>Triglicéridos</b>	0,056	0,045	0,001	0,182	-0,044	-0,336	0,175	0,043
<b>cHDL</b>	-0,014	0,274*	-0,218	0,000	0,082	0,082	-0,038	-0,080
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,021	-0,028	-0,001	0,259**	-0,009	-0,144	0,260**	-0,075
<b>cLDL</b>	-0,004	-0,040	-0,029	-0,122	-0,004	0,033	0,055	-0,125
<b>Lp (a)</b>	0,044	0,320*	0,009	0,153	0,029	-0,162	-0,098	-0,125
<b>cVLDL</b>	0,021	0,051	0,030	0,344*	-0,011	-0,305	0,291*	0,057
<b>Apo B</b>	0,027	0,029	-0,063	-0,043	0,006	-0,463*	0,184	-0,067
<b>NEFA</b>	0,225	0,218	-0,113	-0,013	-0,016	-0,505*	0,194	-0,018

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 39. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS MODIFICACIONES LDLs

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Tamaño LDL</b>	0,002	-0,130	0,035	0,095	0,033	0,217	-0,012	-0,102
<b>LDL negativa</b>	0,019	-0,053	0,111	-0,057	0,040	0,486	-0,100	0,222
<b>LDL oxidada</b>	-0,075	0,074	-0,021	-0,001	0,024	0,268	0,052	0,039

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 40-A. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS CARACTERÍSTICAS HDLS (I)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Apo A-I</b>	0,179	0,119	-0,307*	-0,005	-0,138	-0,016	0,082	-0,057
<b>Apo A-II</b>	0,010	0,047	-0,060	-0,001	0,136	0,257	0,084	-0,058
<b>HDL-Col</b>	-0,176	-0,085	0,212	0,027	-0,371*	-0,588	0,051	-0,252
<b>HDL-Tg</b>	-0,088	0,015	-0,072	-0,027	0,007	0,248	-0,072	-0,124
<b>HDL-Fos</b>	0,023	-0,082	0,227	-0,035	-0,380*	0,259	-0,082	-0,248
<b>HDL-NEFA</b>	0,398*	-0,112	-0,018	-0,461*	-0,017	0,224	-0,098	0,028
<b>HDL A-I</b>	-0,186	-0,079	0,378*	0,195	-0,181	-0,340	-0,252	-0,026
<b>HDL A-II</b>	0,132	0,090	-0,323**	-0,086	0,329**	0,280	0,168	0,187

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 40-B. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS CARACTERÍSTICAS HDLS (II)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,013	-0,045	0,041	0,058	-0,018	-0,121	0,207	-0,097
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,163	-0,013	-0,033	0,278*	0,016	-0,037	-0,055	-0,101
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,092	0,121	0,025	-0,185	-0,049	-0,135	0,261**	0,085
<b>PON 1</b>	0,032	-0,017	0,127	-0,417*	-0,102	-0,087	-0,170	-0,137
<b>▲Lag Phase</b>	0,159	-0,154	-0,131	-0,236**	-0,220	0,287	0,092	0,083
<b>Inhib. Rf</b>	0,039	-0,084	-0,074	-0,097	0,132	0,252	0,001	0,175

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 41. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs vs TAMAÑO LDLs

	LDL NEGATIVA	LDL OXIDADA
<b>TAMAÑO LDL</b>	0,001	-0,219

TABLA 42. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Peso</b>	0,024	0,028	0,057
<b>Cintura</b>	-0,062	-0,170	0,123
<b>IMC</b>	0,007	0,021	0,076
<b>Insulina</b>	-0,077	-0,355*	-0,098
<b>HbA1c</b>	0,123	-0,096	-0,119

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 43. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLs VS PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Colesterol Total</b>	0,177	-0,036	-0,301*
<b>Triglicéridos</b>	-0,322*	-0,372*	-0,015
<b>cHDL</b>	0,341*	0,139	-0,076
<b>Colesterol no HDL</b>	0,132	-0,057	-0,296*
<b>Lp (a)</b>	0,113	-0,286**	-0,140
<b>cLDL</b>	0,308*	0,440*	-0,308*
<b>cVLDL</b>	-0,249**	-0,487*	-0,026
<b>Apo B</b>	0,114	0,389*	-0,310*
<b>NEFA</b>	-0,031	0,104	-0,070

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 44-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (I)

	<b>Peso</b>	<b>Cintura</b>	<b>IMC</b>	<b>Insulina</b>	<b>HbA1c</b>
<b>Apo A-I</b>	-0,002	0,040	-0,007	-0,136	0,015
<b>Apo A-II</b>	-0,160	-0,107	-0,193	-0,180	0,188
<b>HDL- Col</b>	0,069	-0,196	0,087	0,090	0,252
<b>HDL-Tg</b>	-0,134	-0,132	-0,142	-0,028	0,106
<b>HDL-Fos</b>	0,125	-0,186	0,128	0,141	0,164
<b>HDL-NEFA</b>	0,252	-0,051	0,267	0,166	-0,039
<b>HDL A-I</b>	-0,239	0,122	-0,248	0,185	0,117
<b>HDL A-II</b>	0,379*	0,232	0,391*	-0,171	-0,199

\*Significación estadística



TABLA 44-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS (II)

	<b>Peso</b>	<b>Cintura</b>	<b>IMC</b>	<b>Insulina</b>	<b>HbA1c</b>
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,033	-0,160	0,034	-0,053	0,036
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,080	0,091	-0,076	0,056	-0,102
<b>%HDL PAF-AH</b>	0,126	-0,070	0,126	0,021	0,204
<b>PON 1</b>	0,032	0,017	-0,056	0,104	-0,201
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,117	0,037	-0,149	-0,054	0,088
<b>Inhib. Rf</b>	-0,050	-0,058	-0,070	0,005	-0,080

\*Significación estadística

TABLA 45-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS-GENERALES (I)

	Colesterol total	TGs	HDL	Colesterol no HDL	LDL	Lp (a)	VLDL	Apo B	NEFA
<b>Apo A-I</b>	0,066	-0,041	0,207	0,039	0,111	-0,126	-0,042	0,103	-0,178
<b>Apo A-II</b>	0,351*	-0,435*	0,682*	0,265**	0,509*	0,172	-0,365*	0,266**	-0,067
<b>HDL-Col</b>	0,130	0,204	-0,019	0,136	-0,093	0,084	0,190	-0,044	0,099
<b>HDL-Tg</b>	0,142	-0,648*	0,483*	0,079	0,513*	0,029	-0,541*	0,308**	-0,014
<b>HDL-Fos</b>	0,226	-0,065	0,033	0,228	0,238	0,073	-0,092	0,234	0,182
<b>HDL NEFA</b>	-0,368*	-0,235	-0,236	-0,345*	0,126	-0,147	-0,431*	0,085	0,194
<b>HDL A-I</b>	0,153	0,088	0,113	0,141	0,109	-0,133	0,074	0,007	0,040
<b>HDL A-II</b>	-0,227	0,053	-0,151	-0,213	-0,229	0,016	0,056	-0,150	-0,117

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 45-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS-GENERALES (II)

	Colesterol total	TGs	HDL	Colesterol no HDL	LDL	Lp (a)	VLDL	Apo B	NEFA
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,358*	-0,190	0,117	0,347*	0,388*	0,126	-0,075	0,382*	-0,128
<b>HDL PAF-AH</b>	0,318*	0,026	0,059	0,315*	0,109	0,101	0,224	0,181	0,034
<b>%HDL PAF-AH</b>	0,061	-0,127	0,034	0,057	0,221	0,080	-0,209	0,169	-0,097
<b>PON 1</b>	-0,120	-0,077	-0,143	-0,103	0,058	-0,110	-0,116	0,049	0,100
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,134	-0,122	0,127	-0,153	-0,079	-0,058	-0,120	-0,138	-0,012
<b>Inhib. Rf</b>	-0,199	-0,234**	0,140	-0,220	-0,081	-0,311*	-0,147	-0,103	-0,068

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 46. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS MODIFICACIONES LDLS

	<b>Tamaño LDL</b>	<b>LDL negativa</b>	<b>LDL Oxidada</b>
<b>Apo A-I</b>	-0,203	0,283**	0,007
<b>Apo A-II</b>	0,459*	0,294**	-0,054
<b>HDL-Col</b>	0,076	0,017	0,164
<b>HDL-Tg</b>	0,231	0,253	0,100
<b>HDL-Fos</b>	0,134	0,083	0,055
<b>HDL-NEFA</b>	-0,234	0,120	0,127
<b>HDL A-I</b>	0,235	-0,124	-0,302**
<b>HDL A-II</b>	-0,234	-0,018	0,081
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,229**	-0,075	-0,210
<b>HDL PAF-AH</b>	0,135	-0,084	-0,218
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,074	-0,102	-0,032
<b>PON 1</b>	0,028	0,137	-0,257**
<b>▲ Lag Phase</b>	0,424*	0,116	-0,016
<b>Inhib. Rf</b>	0,267**	0,333*	-0,011

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

**CORRELACIONES ENTRE PARÁMETROS FINALES EN EL ESTUDIO (POBLACIÓN TOTAL)**

**TABLA 47. CORRELACIONES PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES**

	<b>Peso</b>	<b>Cintura</b>	<b>IMC</b>	<b>Insulina</b>	<b>HbA1c</b>
<b>Colesterol total</b>	-0,111	-0,092	-0,033	0,038	-0,129
<b>Triglicéridos</b>	0,140	0,230**	0,104	0,151	-0,142
<b>cHDL</b>	-0,239**	-0,289*	-0,106	-0,140	0,023
<b>c NO HDL</b>	-0,037	0,000	0,001	0,085	-0,141
<b>cLDL</b>	-0,047	-0,037	0,034	0,081	-0,091
<b>Lp (a)</b>	-0,139	-0,204	0,015	0,133	0,133
<b>cVLDL</b>	0,003	0,066	-0,030	0,076	-0,146
<b>Apo B</b>	0,037	0,021	0,087	0,175	-0,208
<b>NEFA</b>	0,098	0,213	0,186	0,053	-0,237** (0,076)

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 48. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS ANTROPOMÉTRICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Peso</b>	0,046	-0,086	0,185	-0,139	-0,211	-0,040	0,243**	-0,227
<b>Cintura</b>	0,119	-0,038	0,295*	-0,078	-0,230	-0,079	0,321*	-0,204
<b>IMC</b>	0,212	-0,071	0,073	-0,083	-0,142	-0,204	0,524*	-0,120
<b>Insulina</b>	0,163	0,064	0,004	0,109	0,004	-0,498*	0,545*	-0,187
<b>HbA1c</b>	-0,139	-0,055	-0,062	0,023	-0,090	0,305	-0,104	0,079

\*Significación estadística \*\* Tendencia a significación estadística

TABLA 49. CORRELACIONES PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS VS LIPIDICO-METABÓLICOS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Colesterol total</b>	-0,049	-0,007	-0,034	-0,094	0,071	-0,339	0,026	-0,032
<b>Trigliceridos</b>	0,034	0,283*	0,044	-0,020	-0,085	-0,413**	0,065	-0,212
<b>cHDL</b>	-0,110	-0,004	-0,073	-0,132	0,008	0,211	0,127	0,305*
<b>c NO HDL</b>	-0,018	-0,006	-0,011	-0,054	0,070	-0,400**	-0,021	-0,132
<b>cLDL</b>	-0,056	-0,059	-0,035	0,000	0,080	-0,348	-0,053	-0,054
<b>Lp (a)</b>	0,067	-0,037	-0,225**	-0,214	-0,044	-0,120	0,150	0,333*
<b>cVLDL</b>	0,084	0,198	0,023	-0,095	-0,002	-0,401**	0,107	-0,193
<b>Apo B</b>	0,005	0,112	0,110	0,007	0,087	-0,770*	-0,022	-0,128
<b>NEFA</b>	-0,024	0,358*	0,289*	-0,088	-0,121	-0,175	0,176	-0,106

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 50. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Peso</b>	-0,090	-0,140	-0,239**
<b>Cintura</b>	-0,149	-0,208	-0,136
<b>IMC</b>	-0,164	-0,131	-0,191
<b>Insulina</b>	-0,152	-0,108	0,010
<b>HbA1c</b>	0,055	0,044	0,019

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 51. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS PARÁMETROS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL oxidada
<b>Colesterol Total</b>	-0,097	-0,025	0,268 **
<b>Triglicéridos</b>	-0,535*	-0,185	0,250**
<b>cHDL</b>	0,243**	0,274**	-0,178
<b>Colesterol no HDL</b>	-0,179	-0,108	0,337*
<b>cLDL</b>	-0,030	-0,122	0,279*
<b>Lp (a)</b>	0,336*	0,716*	-0,026
<b>cVLDL</b>	-0,319*	-0,028	0,244**
<b>Apo B</b>	-0,246**	-0,396*	0,388*
<b>NEFA</b>	-0,219	-0,141	0,259**

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística



TABLA 52. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS PARAMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Tamaño LDL</b>	-0,017	-0,365*	-0,188	0,025	0,150	0,378**	-0,145	0,144
<b>LDL negativa</b>	0,025	-0,005	-0,116	-0,230	-0,136	0,446	0,135	0,204
<b>LDL oxidada</b>	0,102	0,059	0,205	0,043	0,093	-0,458*	-0,161	-0,233**

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 53. CORRELACIONES MODIFICACIONES LDLS VS TAMAÑO LDL

	LDL NEGATIVA	LDL OXIDADA
<b>TAMAÑO LDL</b>	0,385*	0,067

TABLA 54. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS.

	<b>Peso</b>	<b>Cintura</b>	<b>IMC</b>	<b>Insulina</b>	<b>HbA1c</b>
<b>Apo A-I</b>	-0,226**	-0,310*	-0,085	-0,150	0,005
<b>Apo A-II</b>	-0,299*	-0,223	0,016	-0,032	0,122
<b>HDL- Col</b>	0,125	0,022	-0,026	-0,121	-0,213
<b>HDL-Tg</b>	-0,035	-0,068	-0,138	-0,234	-0,096
<b>HDL-Fos</b>	-0,027	-0,027	-0,084	-0,192	-0,136
<b>HDL-NEFA</b>	-0,285**	-0,210	0,006	-0,062	-0,106
<b>HDL A-I</b>	0,100	0,062	0,038	-0,104	-0,131
<b>HDL A-II</b>	-0,066	-0,016	0,039	0,191	0,186
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,330*	0,135	0,083	0,118	-0,075
<b>HDL PAF-AH</b>	0,180	0,030	0,028	0,139	-0,288*
<b>% HDL PAF-AH</b>	-0,143	-0,107	0,002	0,003	-0,235**
<b>PON 1</b>	-0,073	-0,100	0,122	0,088	-0,042
<b>▲ Lag Phase</b>	0,015	-0,148	-0,114	0,041	0,105
<b>Inhib. Rf</b>	0,246**	0,205	0,159	0,116	0,122

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 55-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (I)

	<b>Colesterol total</b>	<b>TGs</b>	<b>HDL</b>	<b>Colesterol no HDL</b>	<b>LDL</b>	<b>Lp (a)</b>	<b>VLDL</b>	<b>Apo B</b>	<b>NEFA</b>
<b>Apo A-I</b>	0,352*	-0,047	0,931*	0,060	0,086	0,182	-0,021	0,005	0,216
<b>Apo A-II</b>	0,472*	0,282*	0,217	0,431*	0,448*	0,014	0,174	0,253**	0,300*
<b>HDL-Col</b>	-0,301**	-0,239	0,144	-0,357*	-0,336*	0,325*	-0,177	-0,438*	-0,098
<b>HDL-Tg</b>	0,020	0,277**	-0,297**	0,102	-0,011	0,032	0,226	0,029	0,044
<b>HDL-Fos</b>	-0,269**	0,066	-0,192	-0,232	-0,274**	0,167	-0,031	-0,305**	0,006
<b>HDL-NEFA</b>	0,312**	0,125	-0,125	0,363*	0,429*	0,086	0,084	0,411*	0,055
<b>HDL A-I</b>	-0,361*	-0,092	-0,057	-0,366*	-0,447*	-0,026	-0,035	-0,360*	-0,236
<b>HDL A-II</b>	0,363*	0,042	0,110	0,353*	0,421*	-0,140	0,044	0,409*	0,135

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 55-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS LIPÍDICO-METABÓLICOS GENERALES (II)

	Colesterol total	TGs	HDL	Colesterol no HDL	LDL	Lp (a)	VLDL	Apo B	NEFA
<b>PAF-AH TOTAL</b>	0,112	0,155	-0,265*	0,064	0,170	-0,046	0,172	0,012	-0,113
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,022	0,093	-0,270*	-0,049	-0,033	-0,085	-0,045	0,008	-0,049
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,129	-0,040	0,042	-0,148	-0,226**	-0,095	0,024	-0,290*	0,111
<b>PON 1</b>	0,163	0,025	-0,230**	0,242**	0,323*	-0,043	-0,025	0,325*	-0,074
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,103	0,054	-0,177	-0,049	-0,006	0,038	-0,045	0,008	-0,129
<b>Inhib. Rf</b>	-0,021	0,034	-0,279*	0,069	0,146	0,001	-0,057	0,190	-0,015

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 56-A. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (I)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>Apo A-I</b>	-0,134	0,078	-0,056	-0,127	-0,003	0,134	0,123	0,286*
<b>Apo A-II</b>	-0,214	0,032	-0,081	0,043	-0,005	-0,036	-0,097	0,192
<b>HDL-Col</b>	0,109	0,152	-0,171	-0,152	0,090	-0,299	-0,009	-0,017
<b>HDL-Tg</b>	0,015	0,083	-0,117	-0,044	-0,041	-0,223	-0,242	-0,101
<b>HDL-Fos</b>	0,038	0,018	-0,225	-0,016	-0,022	-0,269	-0,271	-0,107
<b>HDL-NEFA</b>	-0,038	-0,138	-0,085	0,192	-0,084	-0,321	-0,070	-0,024
<b>HDL A-I</b>	0,107	0,094	-0,313**	-0,253	0,234	0,513	-0,109	-0,070
<b>HDL A-II</b>	-0,095	-0,102	0,304**	0,175	-0,124	-0,157	0,197	0,095

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 56-B. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS PARÁMETROS INFLAMATORIOS-CITOQUINAS (II)

	PCR	IL-6	IL-8	MCP -1	TGFb	GM-CSF	Leptina	Adiponectina
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,003	-0,042	-0,098	-0,036	0,091	-0,426**	-0,063	-0,162
<b>HDL PAF-AH</b>	0,099	0,046	0,005	-0,022	-0,010	-0,264	-0,031	-0,364*
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,130	0,097	0,088	0,053	-0,023	0,163	0,022	-0,175
<b>PON 1</b>	0,153	0,046	-0,002	0,010	-0,257**	-0,231	0,040	-0,224
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,054	0,158	-0,067	0,243**	0,075	-0,028	-0,185	0,003
<b>Inhib. Rf</b>	0,236**	0,123	0,107	0,162	-0,014	-0,412**	0,047	-0,095

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística

TABLA 57. CORRELACIONES CARACTERÍSTICAS HDLS VS MODIFICACIONES LDLs

	Tamaño LDL	LDL negativa	LDL Oxidada
<b>Apo A-I</b>	0,155	0,150	-0,120
<b>Apo A-II</b>	-0,146	-0,075	0,148
<b>HDL-Col</b>	0,035	0,308**	-0,074
<b>HDL-Tg</b>	-0,032	0,145	0,215
<b>HDL-Fos</b>	0,042	0,089	0,205
<b>HDL-NEFA</b>	-0,040	-0,206	0,381*
<b>HDL A-I</b>	-0,171	0,014	-0,188
<b>HDL A-II</b>	0,065	-0,138	0,000
<b>PAF-AH TOTAL</b>	-0,140	0,014	0,011
<b>HDL PAF-AH</b>	-0,035	0,217	-0,057
<b>% HDL PAF-AH</b>	0,073	0,239	-0,132
<b>PON 1</b>	-0,051	-0,071	0,211
<b>▲ Lag Phase</b>	-0,241**	0,046	-0,131
<b>Inhib. Rf</b>	-0,216	0,144	-0,028

\*Significación estadística \*\*Tendencia a significación estadística







## **CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TESIS**

El Dr. Alberto de Leiva Hidalgo, Catedrático Emérito de la Universitat Autònoma de Barcelona, y el Dr. Antonio Pérez Pérez, profesor asociado de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director de Unidad del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, en calidad de directores de esta tesis,

### **DECLARAN:**

La Tesis Doctoral titulada “ Capacidad antiaterogénica y antiinflamatoria de las HDLs en la Hiperlipemia Familiar Combinada. Efectos del tratamiento hipolipemiente”, ha sido realizada por D. José Maria Cubero Marcos bajo nuestra dirección y reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa en su día ante el tribunal correspondiente.

Lo cual firmamos en Barcelona, a 4 de septiembre del año dos mil dieciocho.

Alberto de Leiva Hidalgo

Antonio Pérez Pérez