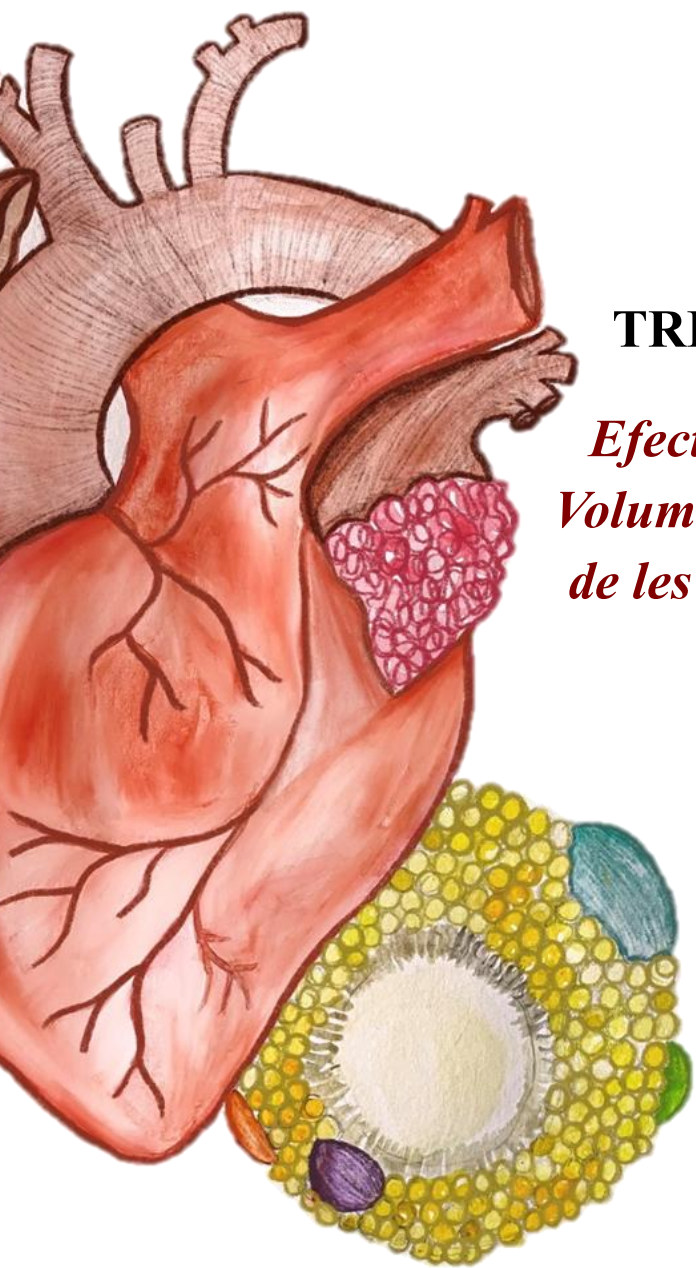

This is the **published version** of the master thesis:

El Allam Kanice, Aya; Sanchez-Quesada, Jose Luis , dir.; Benitez, Sonia ,
dir. Efecte de la Cirurgia Bariàtrica sobre el Volum de Greix Epicàrdic, la
Funcionalitat de les Lipoproteïnes i el Perfil Inflamatori en Pacients Obesos.
2025. (Màster Universitari en Bioquímica, Biologia Molecular i Biomedicina)

This version is available at <https://ddd.uab.cat/record/320055>

under the terms of the  license



TREBALL DE FINAL DE MÀSTER

Efecte de la Cirurgia Bariàtrica sobre el Volum de Greix Epicàrdic, la Funcionalitat de les Lipoproteïnes i el Perfil Inflamatori en Pacients Obesos

Autora:

Aya El Allam Kanice

Directors:

José Luis Sánchez-Quesada

Sònia Benítez González

Cardiovascular Biochemistry. Institut de Recerca Sant Pau

Màster en Bioquímica, Biologia Molecular i Biomedicina

ÍNDEX

ABSTRACT	5
LLISTAT D'ABREVIATURES.....	6
INTRODUCCIÓ.....	8
Obesitat i malalties cardiovasculars	8
Lipoproteïnes a l'obesitat	9
Importància del greix epicàrdic i relació amb l'obesitat	10
Cirurgia bariàtrica com a intervenció terapèutica.....	11
Justificació de l'estudi	11
HIPÒTESI I OBJECTIUS.....	12
Hipòtesi.....	12
Objectius.....	12
MATERIAL I MÈTODES	12
Tipus d'estudi	12
Criteris de selecció.....	12
Mètode d'obtenció de les mostres de sang	13
Determinacions en plasma.....	13
Luminex.....	13
Aïllament de lipoproteïnes per ultracentrifugació seqüencial	14
Composició química de les lipoproteïnes.....	14
Diàlisi per cromatografia de gel filtració.....	14
Cromatografia líquida (AKTA-FLPC)	15
Susceptibilitat a l'oxidació de la LDL	15
Electroforesi en gel en gradient de poliacrilamida no desnaturalitzant.....	15
Activitat acetilhidrolasa del factor activador de plaquetes.....	16
Susceptibilitat a l'oxidació de la LDL i acció antioxidant de la HDL.....	16
Anàlisi estadístic.....	17
RESULTATS I DISCUSSIÓ	18
CONCLUSIONS.....	26
BIBLIOGRAFIA	27

AGRAÏMENTS

Apartat molt esperat per mi per escriure'l, i ara que l'estic escrivint, no tinc paraules. Primer, voldria comentar que durant la realització d'aquest treball he passat per molts canvis a la meua vida, cadascun amb els seus moments bonics i no tant bonics, però tots necessaris per arribar a la versió que soc ara i que encara té molt per aprendre.

Simplement, gràcies a tota la gent que ha fet possible que aquest treball tirés endavant. José Luís i Sònia, gràcies per ser els directors que qualsevol voldria tenir, per estar sempre a la nostra disposició tant en termes de realització d'aquest projecte com en qualsevol cosa que necessitéssim.

Núria, has sigut aquella persona que mai ha dubtat a ajudar-me; fins i tot estant de congressos, sempre has tingut temps per tal d'aconsellar-me, d'ajudar-me i ser una membre imprescindible del nostre grup.

Jose, mai oblidaré les hores i hores que hem passat al laboratori davant del cromatògraf esperant que sortís la LDL (-). Encara que no t'ho digui sovint, has estat i ets una persona molt especial per mi i que vull mantenir a la meua vida.

Montserrat, Mateu i Xènia, gràcies per ser els millors companys de laboratori i de vida, heu fet d'aquesta estança la millor experiència que he pogut tenir. Agraeixo tot el que m'heu aportat com a professionals i com a persones, perquè m'heu fet créixer i sentir-me molt estimada. Per a mi, sou una llar a la qual sempre podré tornar.

Voldria agrair a tots els membres que han format i formen part del grup de Bioquímica Cardiovascular i del de Malalties Relacionades amb Lípids a l'Institut de Recerca Sant Pau. Cadascun de vosaltres ha estat una peça clau i enriquidora, que m'ha aportat coneixements i vivències que mai oblidaré.

Finalment, i no per això menys important, vull agrair tot el treball que fan els meus pares, perquè sense tot el sacrifici que han realitzat, no estaria on soc ara.

Title: Effect of Bariatric Surgery on Epicardial Adipose Tissue Volume, Lipoprotein Functionality, and Inflammatory Profile in Obese Patients

Author: Aya El Allam Kanice.

Directors: José Luís Sánchez-Quesada and Sònia Benítez González.

Institution: *Cardiovascular Biochemistry. Institut de Recerca Sant Pau.*

ABSTRACT

Background: Epicardial adipose tissue (EAT) is a visceral fat depot that surrounds the heart. It plays a key role in cardiac function, as it is the main source of non-esterified fatty acids (NEFA) and other lipids. However, EAT also acts as a transducer of inflammatory effects. An increase in EAT volume has been associated with a higher risk of heart failure or atherosclerosis, a situation commonly observed in patients with metabolic diseases such as obesity or diabetes. Despite this, the molecular mechanisms involved remain unclear.

Materials and methods: This is a longitudinal (observational) study including 14 patients with severe morbid obesity who were scheduled to undergo bariatric surgery at Hospital de Sant Pau, and 14 healthy controls with normal weight. Anthropometric and biochemical parameters, as well as lipoprotein composition and function, were evaluated before and 12 months after the intervention.

Results: Bariatric surgery normalized EAT volume and the levels of adipokines secreted by adipose tissue (leptin and adiponectin), but elevated levels of other inflammatory biomarkers persist. Bariatric surgery also improved several parameters of LDL function (proportion of LDL(-) and aggregated LDL) and HDL (by normalizing particle size).

Conclusions: Bariatric surgery leads to a significant reduction in BMI and EAT volume, accompanied by an improvement in the inflammatory profile and lipoprotein functionality.

Keywords

Cholesterol; Lipoprotein; Obesity; Epicardial Adipose Tissue (EAT); Inflammation; Bariatric Surgery; Biomarkers.

LLISTAT D'ABREVIATURES

ACC: American College of Cardiology.

AHA: American Heart Association.

ALT: Alanina aminotransferasa.

Apo: Apolipoproteïna.

AST: Aspartat aminotransferasa.

BHT: Butil-hidroxitoluè.

CAC: índex de calci a artèria coronària

CV: Cardiovascular.

DTNB: 5,5'-Ditio-bis-(àcid 2-nitrobenzoic).

EAT: Teixit epicàrdic.

iEAT: volum teixit epicàrdic

EDTA: Àcid etilendiamintetracètic.

EGTA: Àcid etilenglicol-bis(β -aminoetil èter)-N,N,N',N'-tetraacètic.

ELISA: Assaig immuoabsorbent lligat a enzims.

FBS: Sèrum fetal boví.

FPLC: Fast Protein Liquid Chromatography
(Cromatografia Líquida Ràpida de Proteïnes).

GGE: Electroforesi en gel en gradient no desnaturalitzant.

GGT: Gamma-glutamil transferasa.

HbA1c: Hemoglobina glicosilada.

HC: Healthy controls (controls sans).

HDL: Lipoproteïna d'alta densitat.

HTA: Hipertensió arterial.

IDL: Lipoproteïna de densitat intermitja.

IL-6: Interleucina 6.

IMC: Índex de massa corporal.

LDL: Lipoproteïna de baixa densitat.

LDL pool: Lipoproteïna de baixa densitat procedent de pool.

LDL (-): Lipoproteïna de baixa densitat electronegativa.

sLDL: Lipoproteïna de baixa densitat petita i densa.

Lp (a): Lipoproteïna (a).

Lp-PLA2: Fosfolipasa A2 associada a lipoproteïnes.

LPS: Lipopolisacàrid.

LVEF: Fracció d'ejecció del ventricle esquerre.

MRI: Ressonància magnètica.

NEFA: Àcids grassos no esterificats.

NT-proBNP: N-terminal del pèptid natriurètic cerebral de tipus B.

OMS: Organització Mundial de la Salut.

PAF: Factor activador plaquetari.

PAF-AH: Acetilhidrolasa del factor activador plaquetari.

PBS: Tampó fosfat salí.

PCR: Proteïna C reactiva.

PLA2: Fosfolipasa A2.

SD: Desviació estàndard.

SEM: Error estàndard de la mitjana.

SMasa: Esfingomielinasa.

TA: Tampó A.

TC: Tomografia computeritzada.

TG: Triglicèrid.

TOS: The Obesity Society.

TnT: Troponina T cardíaca.

UV: Ultraviolada.

VLDL: Lipoproteïna de molt baixa densitat.

INTRODUCCIÓ

Obesitat i malalties cardiovasculars

Segons l'Organització Mundial de la Salut (OMS), l'any 2022 uns 2500 milions d'adults de 18 o més anys tenien sobrepès, dels quals més de 890 milions eren obesos. Això representa que el 43% dels adults de 18 anys o més tenien sobrepès (1)

Des del punt de vista clínic, l'American Heart Association (AHA), l'American College of Cardiology (ACC) i The Obesity Society (TOS) i els criteris de l'OMS defineixen el sobrepès com un índex de massa corporal (IMC) $25 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$ i obesitat amb un $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ (2).

L'obesitat és caracteritzada per una acumulació o una distribució abnormal de greix corporal. Aquesta acumulació està relacionada amb l'aparició de diferents complicacions, com diferents malalties metabòliques (3). Aquest augment de sobrepès i d'obesitat està també relacionat amb factors ambientals com ara la dieta. Una dieta rica en greixos saturats i sucres, un estil de vida sedentari i l'estrès poden augmentar-ne el risc i acabar alterant el metabolisme lipídic i inflamatori (4).

L'obesitat acaba derivant a un major risc cardiovascular CV, a causa de la presència de comorbiditats com la diabetis mellitus, la hipertensió arterial, les dislipèmies i problemes a nivell metabòlic com la síndrome metabòlica (5). Normalment, l'obesitat va acompanyada d'una inflamació crònica i un augment de l'estrès oxidatiu que afavoreix l'augment d'aquest risc CV (6). Les causes de la malaltia CV en els individus obesos són l'aterosclerosi i la insuficiència cardíaca.

L'aterosclerosi és una malaltia inflamatòria crònica de la paret arterial que cursa de manera característica amb l'acumulació de lípids, especialment colesterol provinent de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL) i lipoproteïnes romanents. És la principal responsable d'infarts de miocardi, ictus i malaltia arterial perifèrica (7).

La insuficiència cardíaca es dona quan el múscul cardíac no és capaç de subministrar la quantitat suficient de sang, nutrients i oxigen als diferents òrgans. Les causes més freqüents d'insuficiència cardíaca són la malaltia arterial coronària arterioescleròtica, la hipertensió arterial i els problemes del ritme o de les vàlvules cardíques (8).

Aquestes malalties són multifactorials, ja que hi ha una interacció complexa entre factors genètics i ambientals. Pot ser el resultat d'alteracions de base genètica, com ara hiperlipèmies hereditàries, malalties com la diabetis mellitus o la hipertensió arterial. Tot i això, aquesta pot ser alterada per diversos factors ambientals, entre ells l'alimentació i l'estil de vida (sedentari, dietes riques en greixos saturats i àcids grassos trans), consum de tabac, etcètera. També hi ha factors de risc que poden afavorir l'aparició de la malaltia, com ara l'edat i sexe (homes majors de 45 anys i dones majors de 55 anys presenten més risc). La presència de la malaltia CV en antecedents familiars és un factor de risc molt important (7).

Lipoproteïnes a l'obesitat

Els lípids a l'organisme, a excepció dels àcids grassos, es transporten per l'organisme en forma de complex lípid-proteïna, anomenades lipoproteïnes. Aquestes lipoproteïnes presenten un nucli hidrofòbic que el formen especialment lípids no polars com el colesterol esterificat, i els triglicèrids, envoltat per una superfície hidrofílica polar, constituïda per lípids polars com colesterol lliure, fosfolípids i apolipoproteïnes. Les lipoproteïnes que es troben al plasma es poden dividir en diferents tipus segons la mida, la composició lipídica i apolipoproteïnes (veure *Figura 1*): quilomicrons, quilomicrons romanents, les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL), VLDL romanents o lipoproteïnes de densitat intermèdia (IDL), lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), lipoproteïnes d'alta densitat (HDL) i la lipoproteïna a (Lp(a)) (9).

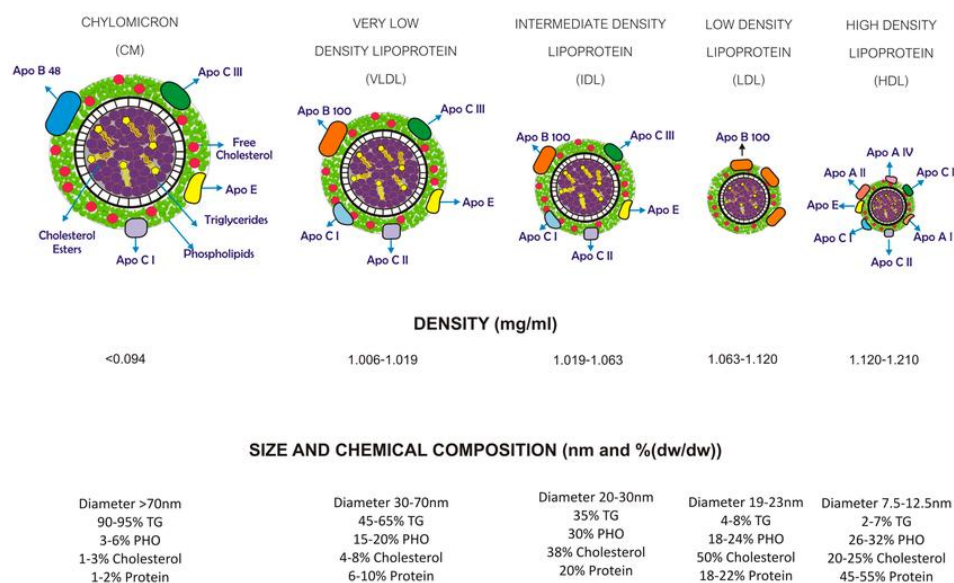


Figura 1. Classificació i composició química de les lipoproteïnes (10).

La principal funció de les lipoproteïnes és la de transportar colesterol a diferents teixits. Les VLDL són riques en triglicèrids i per tant els transporten per tot l'organisme i a mesura que van perdent-los, va es va transformant a IDL i LDL. Les LDL transporten el colesterol del fetge cap als teixits perifèrics (11). Aquestes lipoproteïnes contenen l'apolipoproteïna B100 (*Figura 1*), proporcionant-les estabilitat estructural (12) i sent el principal lligand dels receptors LDL, per tant, participant en el aclariment de colesterol de la sang (13)

La principal part proteica de les HDL és l'apolipoproteïna A-I, donant estructura a la lipoproteïna i definint la mida i forma d'aquesta a més de participar en el transport revers del colesterol dels teixits al fetge (10,14).

En casos d'obesitat i diabetis tipus 2 es troben alteracions del perfil lipídic i acaba donant el que és conegut com a dislipèmia diabètica o aterogènica (15).

La dislipèmia diabètica es dona quan hi ha alteracions associades al metabolisme de la glucosa. Aquesta s'evidencia amb uns nivells alts de triglicèrids, nivells baixos d'HDL i

canvis en l'estructura i composició de les LDL (petites i denses, conegudes com a *small LDL* (sLDL) (15,16), augmentant el risc de desenvolupar aterosclerosi. En el cas de la diabetis tipus 1 poden haver-hi nivells de triglicèrids elevats però mantenir-se normals els nivells d'HDL (16).

Els pacients amb diabetis tipus 2 freqüentment presenten obesitat amb acumulació de greix a nivell abdominal i visceral. El greix visceral induïx un mecanisme de resistència a la insulina i en paral·lel l'alliberament d'adipoquines proinflamatòries, com el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) i la interleucina 6 (IL-6). Aquesta resistència a la insulina provoca un augment de la producció hepàtica de VLDL riques en triglicèrids que acaba derivant en la formació de partícules de LDL petites i denses i la disminució de la concentració de HDL (15). Segons Genua et al. (6) la LDL dels pacients obesos presenten alteracions en les seves propietats aterogèniques en comparació al grup control, ja que aquestes LDL són més susceptibles a oxidar-se i a més la presència de LDL modificada proinflamatòria es troba augmentada en aquests individus. A part de tot això, la mida de les LDL dels pacients obesos és més petita en comparació als controls.

Importància del greix epicàrdic i relació amb l'obesitat

Les malalties cardiovasculars (malaltia arterial isquèmica i insuficiència cardíaca) constitueixen la principal causa de mort en persones amb diabetis mellitus tipus 2 i obesitat (2). Les causes són molt variades, i una molt rellevant pot ser un augment del greix visceral, i específicament el greix epicàrdic (17).

El teixit adipós epicàrdic (EAT) és un dipòsit de greix visceral que envolta el cor per sota del teixit pericàrdic. Aquest teixit es troba en contacte amb el miocardi i els vasos coronaris, per tant, existeix una gran interacció d'aquestes estructures (17). Principalment format per adipòcits, però també inclou ganglis, nervis i cèl·lules immunitàries i inflammatòries. A més, té un paper molt important en la funció cardíaca, ja que és la principal font d'àcids grassos no esterificats (NEFA) i altres lípids, que constitueixen la principal font d'energia utilitzada pel miocardi (18).

Hi ha una forta relació entre l'índex de massa corporal (IMC) i la quantitat de greix visceral, i per tant, a major augment de pes més acumulació de teixit adipós epicàrdic (19) que comporta un augment del risc de patir aterogènesi (20).

Tot i que s'ha associat clarament l'augment volum d'EAT amb un major risc d'insuficiència cardíaca o aterosclerosi, i és una situació que es dona comunament en pacients amb malalties metabòliques com l'obesitat o la diabetis, no queden ben definits els mecanismes moleculars implicats.

El EAT també pot actuar provocant efectes inflamatoris, ja que secreta mediadors inflamatoris (adipoquines, algunes proteïnes, lípids bioactius i microARN) que acaben actuant de forma paracrina als teixits circumdants (cardiomiòcits, artèries coronàries) (21).

En condicions normals, l'EAT aporta energia al miocardi, emmagatzema àcids grassos no esterificats i secreta adiponectina, una adipoquina amb activitat antiinflamatòria que presenta propietats cardioprotectores (18).

No obstant això, en situacions de sobrepès i obesitat hi ha un augment del volum de EAT, acompanyat d'un canvi fenotípic que deriva a un perfil proinflamatori amb la secreció de molècules com la leptina, TNF- α , IL-6 i resistina que poden provocar efectes proinflamatoris al miocardi, provocant una acumulació excessiva de teixit connectiu al cor anomenada fibrosi i conseqüentment disfunció ventricular (22).

Cirurgia bariàtrica com a intervenció terapèutica

La pèrdua de pes massiva que segueix la cirurgia bariàtrica va acompanyada de la reducció de l'IMC, del volum de greix epicàrdic, una disminució de la inflamació sistèmica i una baixada del risc d'insuficiència cardíaca (23,24). Per tant, la cirurgia bariàtrica va associada a una disminució de les morts a causa de problemes CV i una menor incidència de fenòmens CV en obesos (25).

A més, diversos estudis han demostrat que la cirurgia bariàtrica disminueix la mortalitat cardiovascular. En part, això es pot explicar per la millora que s'obté del perfil lipídic, amb una disminució dels triglicèrids, un augment de la concentració d'HDL i una millora en les propietats aterogèniques de les lipoproteïnes (5).

Tot i així, no hi ha estudis que relacionin clarament la interconnexió del volum del EAT, diferents biomarcadors de risc cardiovascular i el possible desenvolupament de lesions ateroscleròtiques en pacients amb obesitat.

Justificació de l'estudi

Actualment, no disposem de biomarcadors biològics que es puguin mesurar fàcilment a la pràctica clínica i que permetin avaluar el greix epicàrdic sense recórrer a exploracions d'imatge com la ressonància magnètica o la tomografia computeritzada. Aquestes són tècniques poc accessibles per la majoria de centres hospitalaris i molt costoses.

Per tot això, és necessària la realització d'estudis longitudinals en què diferents grups de pacients (diabètics, obesos, dislipèmics, etc) se sotmetin a diferents intervencions específiques (fàrmacs, canvis d'estil de vida, cirurgia bariàtrica) per a poder relacionar el volum d'EAT amb la causa de la malaltia cardiovascular (26). Concretament, aquest estudi s'ha centrat en l'efecte de la cirurgia bariàtrica en pacients obesos sobre el volum de gras epicàrdic i la relació amb diferents paràmetres de perfil lipídic, funció lipoproteica i inflamació.

HIPÒTESI I OBJECTIUS

Hipòtesi

En el context que es presenta, s'esperaria en els pacients amb obesitat la presència d'una LDL més modificada (més petita i aterogènica) i una HDL amb una capacitat protectora disminuïda, a més, d'un major estat inflamatori i un augment del volum de greix epicàrdic, factors que podrien estar interrelacionats. Tanmateix, després de la intervenció bariàtrica s'espera una reversió d'aquests canvis i una millora en la funcionalitat de les lipoproteïnes.

Objectius

Donada la interacció entre el volum de greix epicàrdic, la desregulació metabòlica i la inflamació sistèmica, aquest estudi pretén investigar l'associació entre el EAT i nous biomarcadors relacionats amb la funció lipoproteica, la inflamació i la insuficiència cardíaca en pacients obesos sense diabetis ni dislipèmia, així com determinar l'efecte de la cirurgia bariàtrica en aquesta associació.

L'objectiu general del treball és analitzar en pacients obesos alteracions de possibles biomarcadors que es puguin relacionar amb el volum d'EAT, per tant, que puguin contribuir a determinar el risc de patir insuficiència cardíaca i arterioesclerosi.

- Quantificar l'efecte de la cirurgia bariàtrica sobre el volum de greix epicàrdic.
- Determinar alteracions en biomarcadors de funció lipoproteica.
- Determinar alteracions en biomarcadors d'inflamació i insuficiència cardíaca.
- Determinar associacions entre els biomarcadors i el volum de EAT
- Analitzar l'efecte de la cirurgia bariàtrica sobre aquests marcadors.

MATERIAL I MÈTODES

Tipus d'estudi

És un estudi longitudinal (observacional) on es van incloure 14 pacients amb obesitat mòrbida severa que havien de ser sotmesos a una cirurgia bariàtrica a l'Hospital de Sant Pau.

Criteris de selecció

Criteris d'inclusió

Els criteris d'inclusió per tal de participar en aquest estudi van ser:

- IMC>40 kg/m² o IMC>35kg/m² amb malalties associades com diabetis mellitus 2, hipertensió i hiperlipèmia.
- Absència de malalties inflamatòries i infeccioses i que no rebin tractaments antiinflamatoris o per l'obesitat.

En el cas dels controls, 14 individus sans, amb un pes normal, normolipèmics i normoglucèmics. No presentaven antecedents de malalties inflamatòries, infeccioses, coronàries o altres malalties conegudes que puguin afectar el seu metabolisme lipídic.

Criteris d'exclusió

Han sigut exclosos els pacients que estaven en tractaments hipolipemians, tractaments antiinflamatoris o que presentaven alguna patologia que pugui afectar el metabolisme de les lipoproteïnes.

Mètode d'obtenció de les mostres de sang

Els pacients van ser sotmesos a una cirurgia bariàtrica i es van obtenir mostres de sang de la setmana prèvia a la intervenció i 12 mesos després.

Després d'un dejuni nocturn de 12 h, es van extreure en tubs Vacutainer que contenen EDTA. Seguidament, el plasma es va obtenir per centrifugació a 1500g durant 15 min a 4 °C i les mostres es van congelar a -80 °C fins al moment de les seves anàlisis.

Determinacions en plasma

Es va dur a terme l'anàlisi bioquímica general mitjançant mètodes automatitzats al Servei de Bioquímica de l'Hospital de Sant Pau. El perfil lipídic bàsic també es va fer al Servei de Bioquímica de l'Hospital Sant Pau i inclou els nivells de colesterol i triglicèrids totals (Roche) on es realitzen mètodes enzimàtics colorimètrics, també s'han realitzat mètodes colorimètrics enzimàtics amb reacció directa per determinar el colesterol VLDL, LDL, HDL, mitjançant la fórmula de Friedewald, la Lp(a) i l'apoB (Roche).

Les apolipoproteïnes apoA-I (Roche), A-II, E, i C-III (Randox), es van mesurar a l'autoanalitzador Cobas 6000/c501 i es tracten de mètodes immunoturbidimètrics. També es van realitzar mesures al Core de l'Hospital de la N-terminal del pèptid natriurètic cerebral de tipus B (NT-proBNP) i la troponina T d'alta sensibilitat (hs-cTnT) (detecció immunoenzimàtica amb electroquimioluminescència).

Luminex

Luminex xMAP (Multi-Analyte Profiling) utilitza una tecnologia basada en microesferes o perles que estan marcades amb fluorescència amb un codi de color diferent assignat a cada una que permet analitzar 80 anàlits a la vegada. D'aquesta manera s'obté per una part la perla marcada, per altra banda, es detecta la mostra (27).

Específicament s'han fet servir els següents kits comercials per la quantificació de les molècules inflamatòries indicades:

- **HAGE1MAG-20K** (GDF-15, Leptina).
- **IFU-HCYTA-60K** (IL-1, IL-6 i TNF- α).
- **HCKP2-11K** (Galectina-3).
- **HADK1MAG** (IL β , TNF, GDF-15, galectina-3, resistina).

Aïllament de lipoproteïnes per ultracentrifugació seqüencial

La separació de lipoproteïnes es realitza amb ultracentrifugació seqüencial de flotació en funció de la densitat de la proteïna: VLDL + IDL (1,019 g/mL), LDL (1,063 g/mL) i HDL (1,210 g/mL) (28). Per tal d'arribar a les concentracions necessàries, s'ha calculat la quantitat a afegir de KBr amb la següent fórmula (29):

$$\text{grams de KBr} = \frac{\text{Volum (mL)} \cdot (\text{densitat final} - \text{densitat inicial})}{1 - (0,312 \cdot \text{densitat final})}$$

Coneixent la densitat de la solució de 1,340 g/mL i el seu contingut de KBr es determina el volum d'aquesta per afegir. Per portar a la ultracentrífuga s'han posat les mostres en tubs de 2,5 mL de policarbonat lliures de LPS (lipopolisacàrid). En aquest es va posar 1 mL de plasma o l'infranadant (aïllament LDL i HDL), el volum calculat de solució de densitat 1,340 g/mL i el volum necessari de solució 1,006 g/mL (sense KBr) fins a arribar a 2,5 mL (veure *Taula 1*). Després es mescla suaument, s'equilibren per pes els tubs i se centrifuguen durant un mínim de 18 h les VLDL i de 20 h les LDL i les HDL a 36.000 rpm a 8 °C en la Ultracentrífuga Beckman Optimal 90K. Un cop finalitzades les centrifugacions es procedeix a recollir el sobrenadant (400 µL VLDL, 600 µL LDL i 800 µL HDL).

Taula 1. Volums de solucions de densitat per portar el plasma a la densitat desitjada.

	Lipoproteïna a separar	Plasma/infranadant	Solució densitat KBr 1,340	Solució densitat inicial	Volum final
1	VLDL+IDL	1 mL	97 µL	1,403 mL de sol. 1,006	2,5 mL
2	LDL	1 mL	338 µL	1,162 mL de sol. 1,019	2,5 mL
3	HDL	1 mL	1212 µL	0,288 mL de sol. 1,063	2,5 mL

Composició química de les lipoproteïnes

La composició química de les lipoproteïnes va ser mesurada amb l'autoanalitzador Cobas 6000/c501 (mètodes comercials immuniturbidimètrics per les apos i enzimocolorimètrics pels altres components). Els reactius per la determinació de l'apoB, apoA-1, triacilglicèrids i colesterol pertanyen a Roche Diagnostics. Els fosfolípids a Wako Biochemicals i els d'apoA-II, apo-E i apoC-III a Randox Laboratories.

Diàlisi per cromatografia de gel filtració

Per tal d'eliminar les restes de sals com KBr i EDTA procedents de la prèvia separació de lipoproteïnes, i així evitar qualsevol interferència en les diferents anàlisis, s'han realitzat diàlisis amb unes columnes que contenen resina Sephadex G-25. Aquestes columnes són PD10 de GE Healthcare i es van utilitzar per a la diàlisi de les LDLs i les HDLs aïllades de cada individu (inclosos els controls) amb també fosfat salí (PBS) pels estudis d'oxidació, de susceptibilitat a l'oxidació i de composició, o amb també A pels estudis de LDL(-).

PBS
137 mM NaCl 2,7 mM KCl 6,5 mM Na ₂ HPO ₄ (2H ₂ O) pH 7,4

Cromatografia líquida (AKTA-FLPC)

Els sistemes cromatogràfics utilitzats per calcular el percentatge de LDL(-) i LDL agregada que es troba present a la LDL total (mostra d'LDL dialitzada en TA) van ser el AKTA-FPLC de Amersham Pharmacia Biotech i el NGC System de Bio-Rad. Els percentatges s'han calculat a partir de la integració dels pics d'absorbància detectats a 280 nm.

La proporció de LDL electronegativa (LDL(-)) en la LDL total va ser quantificada per cromatografia d'intercanvi aniònic en gradient en passos, utilitzant una columna MonoQ 5/50 GL (GE Healthcare, Chicago, IL, USA) a un caudal de 1mL/min, segons el descrit anteriorment. Breument, s'han utilitzat 2 tampons, tampó A i tampó B, que serveixen d'unió i elució.

Tampó A (d'unió)

Tris-HCL 10 mM
EDTA 1mM
pH 7,4

Tampó B (d'elució)

Tris-HCL 10 mM
EDTA 1mM
NaCl 1mM
pH 7,4

Es van separar les LDL(-) i LDL natives amb columnes d'intercanvi MonoQtm 5/50 GL Healthcare (GE Healthcare, Chicago, IL, USA). Es van injectar 50 µL de LDL en TA (es va utilitzar un mètode amb gradient salí esglaonat). La LDL nativa es va eluir a 0,26 M NaCl i la LDL(-) a 0,6 M de NaCl.

Susceptibilitat a l'oxidació de la LDL

Es va induir l'agregació de la LDL mitjançant la lipòlisi de l'esfingomielinasa (SMasa) provinent de *Bacillus cereus* sp. (Sigma Diagnosticsm Livonia, MI, USA). S'ha utilitzat una columna PD10 (Sephadex G-25, GE Healthcare). La LDL a una concentració de 0,2 mmol/L de colesterol va ser incubada 2h a 37 °C amb la SMasa, a una concentració final de 25 mU/mL en una solució de 2 mM CaCl₂ i 2 mM MgCl₂. Per la separació de la LDL agregada de la no agregada va realitzar-se una cromatografia d'exclusió per mida (o de filtració de gel) amb una columna Superose 6 Increase 5/150 GL (GE Healthcare) en un sistema NGC (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) a un caudal de 0,3 mL/min.

Electroforesi en gel en gradient de poliacrilamida no desnaturalitzant

Per determinar la mida de la LDL i el percentatge de les subfraccions d'HDL2 i HDL3 de les mostres dels pacients i dels controls s'han realitzat electroforesis en gel gradient de poliacrilamida no desnaturalitzant (GGE).

Per la preparació de mostres es van afegir 15 µL de plasma, 5 µL de sacarosa al 50% i 8 µL de Negre Sudan. Es van carregar les mostres dels pacients i els controls, a més, s'ha

afegit un “pool” de plasmes que conté 3 bandes de LDL amb mida coneguda. L’electroforesi es va realitzar amb tampó borat a 100 V entre 3 i 5 h. El gel es va escanejar en el lector de gels BioRad ChemicDoc 2000 i els seu anàlisi es va realitzar mitjançant el programa Quantity One.

Activitat acetilhidrolasa del factor activador de plaquetes

L’activitat acetilhidrolasa del factor de plaquetes (PAF-AH) es va mesurar del sèrum total i del sèrum precipitant mitjançant un assaig colorimètric. El substrat que es va utilitzar va ser el 2-tio-PAF de Cayman Chemicals. El sèrum precipitat conté bàsicament HDL, ja que els reactius utilitzats fan precipitar les lipoproteïnes amb apoB (VLDL i LDL). S’obté barrejant 200 µL de mostra més 50 µL de solució precipitant (Dextransulfat 50.000 i MgCl₂ 0,5 M, proporció 1:1), deixant reposar 10 minuts, centrifugant 10 minuts a 8.000 rpm i separant 40 µL de sobrenedant.

Es va evaporar el 2-tio-PAF (2 µg/mL) amb nitrogen i seguidament es va resuspendre al substrat tio-PAF amb 12 mL de tampó PAF-AH (0,1 M Tris-HCl, 1 mM EGTA a pH 8).

En plaques de 96 pous es van carregar 15 µL de mostra (sèrum total o sèrum precipitant) i 10 µL de DTNB (PM= 396,35 g/mol) (5,5’-Ditio-bis-(àcid 2-nitrobenzoic)). Finalment, es van afegir 200 µL de substrat de tio-PAF.

$$Activitat\ Total\ \left(\frac{\mu mol}{mL}\right) = \frac{\frac{Abs}{mostra} \cdot 225}{10,3 \cdot \frac{Abs}{mostra}}$$

Susceptibilitat a l’oxidació de la LDL i acció antioxidant de la HDL

Per realitzar aquest experiment es van utilitzar plaques per ultraviolat de 96 pous, les LDL i les HDL dels individus dialitzades en PBS, una de LDL estàndard obtinguda d’un pool de sèrums i CuSO₄ 5 µM. Les LDL i HDL es van portar a una concentració final de colesterol de 0,15 mM en un volum total de 200 µL/pou. Es va afegir el CuSO₄ a cada pou i es va determinar la formació de diens mitjançant la monitorització de la cinètica a 234 nm durant 4 h a 37 °C a l’espectrofotòmetre Synergy HT de BioTek.

La susceptibilitat a l’oxidació de LDL es va determinar a partir del temps de latència (lag time) en minuts. En canvi, la capacitat antioxidant de la HDL es va aconseguir mitjançant el lag time obtingut de restar les cinètiques de HDL sola i de HDL en presència de la LDLpool ((HDL+LDLpool)-HDL) que va permetre calcular l’augment respecte del lag time de la LDLpool en minuts (30).

Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística dels resultats es va realitzar mitjançant el programa GraphPad 9.0.

Es va realitzar el test de Wilcoxon per les mostres aparellades que eren les dels pacients abans i després de la cirurgia i es va realitzar el test de Mann-Whitney per les mostres desparellades com són les mostres dels pacients després de la cirurgia i del grup control. El test de Spearman es va utilitzar per fer l'anàlisi de correlació entre els diferents paràmetres.

Totes les dades estan expressades com a mitjana $\pm$ desviació estàndard (SD) mitjana $\pm$ error estàndard (SEM). S'han representat els valors en dot plots amb barres de mitjana $\pm$ desviació estàndard (SD). Els valors de $P < 0,05$ es van considerar significatius.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Les dades antropomètriques i clíniques pertanyents a tots els subjectes dels diferents grups d'estudi es poden observar a la *Taula 2*. Com es pot observar tant el pes com l'IMC disminueix al realitzar la cirurgia bariàtrica. També es pot observar que en realitzar la cirurgia, disminueix el nombre de subjectes amb HTA.

Taula 2. Dades antropomètriques i clíniques dels subjectes de l'estudi.

	Pre-cirurgia	Post-cirurgia	Controls
	(n=14)	(n=14)	(n=14)
Edat (anys)	48,4±10,3	48,4±10,3	53,9±5,0
Sexo (M/F)	7/7		8/6
Peso (kg)	122,1±24,6	83,5±21,7 ¹	74,6±14,4 ¹
IMC (kg/m²)	44,6±6,5	31,2±7,1 ¹	26,3±3,3 ^{1,2}
HTA	10/4	5/9	3/11
DM	0/14	0/14	0/14
Dislipèmia	0/14	0/14	0/14
Tabaquisme	4/10	0/14 ¹	4/10 ²

¹ p< 0.05 vs Pre-cirurgia; ² p< 0.05 vs Post-cirurgia. IMC: Índex de massa corporal; HTA: Hipertensió arterial; DM: Diabetis Mellitus

A la *Taula 3* es poden observar les variables bioquímiques bàsiques, el perfil lipídic i les apolipoproteïnes dels diferents grups. Els valors de paràmetres de funció hepàtica (ALT, GGT i FA) es troben elevats en els pacients obesos respecte al grup control i aquests valors es reverteixen amb la realització de la cirurgia bariàtrica. El mateix s'observa amb la creatinina i la glucosa. En quant la proteïna C reactiva d'alta sensibilitat (hsCRP), els pacients amb obesitat mostren nivells elevats comparats amb els controls que tenen un valor d'1,38 mg/L. Un cop realitzada la cirurgia els nivells es redueixen de 8,06 mg/L a 2,47 mg/L. Les alteracions en el perfil lipídic i de les apolipoproteïnes són mínimes, i es pot considerar que els pacients obesos presenten valors de normolipèmia.

Taula 3. Dades bioquímiques, perfil lipídic bàsic i apolipoproteïnes dels subjectes del estudi.

	Pre-cirurgia (n=14)	Post-cirurgia (n=14)	Controls (n=14)
HbA1c (%)	5,9±0,4	5,3±0,2 ¹	5,6±0,3 ^{1,2}
Bilirubina (µmol/L)	12,4±5,8	13,1±5,8	11,5±2,8
GGT (U/L)	30,0±10,7	17,6±5,1 ¹	19,9±5,3 ¹
AST (U/L)	23,1±6,9	24,5±8,4	24,8±5,1
ALT (U/L)	27,6±9,1	20,5±8,7 ¹	21,1±8,0 ¹
Fosfatasa alcalina (U/L)	89,7±20,8	99,5±24,4	66,1±15,4 ^{1,2}
Glucosa (mg/dL)	5,62±0,57	4,74±0,76 ¹	4,83±0,48 ¹
Creatinina (mmol/L)	68,5±13,7	60,5±11,4 ¹	68,6±7,6 ²
hsCRP (mg/l)	8,06±5,98	2,47±2,17 ¹	1,38±0,33 ¹
Colesterol total (mmol/L)	4,82±0,44	4,41±0,67	5,24±0,95 ²
TG (mmol/L)	1,15±0,44	0,96±0,58	1,04±0,59
LDL-C (mmol/L)	3,01±0,45	2,53±0,60	3,25±0,82 ²
HDL-C (mmol/L)	1,28±0,24	1,44±0,25 ¹	1,51±0,37
VLDL-C (mmol/L)	0,53±0,21	0,44±0,27	0,48±0,28
Lp(a) (mg/dL)	317,1±336,5	274,4±372,0	359,8±350,6
apoB (g/L)	0,99±0,15	0,83±0,17 ¹	0,98±0,24
apoA-I (g/L)	1,48±0,28	1,29±0,17	1,38±0,178
apoA-II (mg/dL)	40,61±4,49	38,19±3,78	35,26±4,03 ¹
apoC-III (mg/dL)	8,61±1,89	7,94±1,58	9,12±2,71
apoE (mg/dL)	4,25±0,85	3,83±0,71	4,38±0,95
apoJ (mg/L)	43,5±8,2	42,1±18,7	30,0±14,4

¹ p< 0.05 vs Pre-cirurgia; ² p< 0.05 vs Post-cirurgia. HbA1c: hemoglobina glicosilada; GGT: gamma-glutamil transferasa; AST: aspartat aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; hsCRP: Proteïna C reactiva d'alta sensibilitat; TG: triglicèrids; LDL-C: colesterol unit a lipoproteïnes de baixa densitat; HDL-C: colesterol unit a lipoproteïnes de baixa densitat; VLDL-C: colesterol unit a lipoproteïnes de molt baixa densitat; apo: apolipoproteïna.

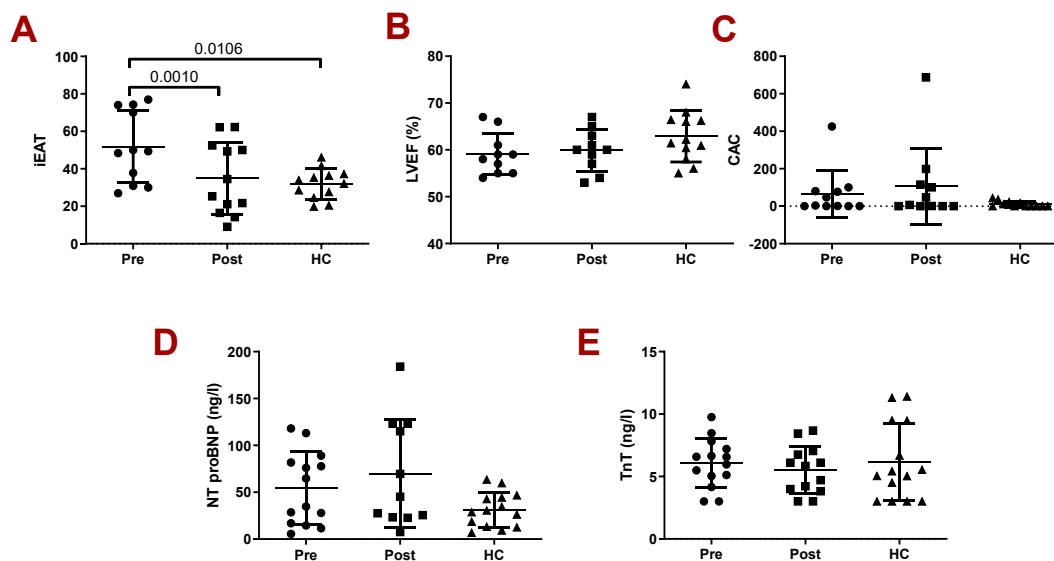


Figura 2. Paràmetres d'imatge i marcadors clàssics d'insuficiència cardíaca. A) teixit adipós epicàrdic indexat per massa corporal; B) fracció d'ejecció del ventricle esquerre; C) índex de calci a artèria coronària; D) N-terminal del pèptid natriurètic cerebral de tipus B (NT-proBNP); E) troponina T d'alta sensibilitat. Les barres horitzontals indiquen les diferències estadísticament significatives.

El volum d'EAT mesurat mitjançant tomografia computeritzada (TC) es troba augmentat de forma significativa en obesos respecte als controls i disminueix un cop realitzada la cirurgia bariàtrica.

El calci coronari es mesura amb l'índex de calci a artèria coronària (CAC) mitjançant TC. Aquest valor és un marcador directe de risc d'aterosclerosi, ja que ens indica la quantitat de calci acumulat en les artèries coronàries. Els resultats de la figura 1C ens indiquen que excepte en un individu obès, podem parlar d'absència d'aterosclerosi avançada.

El volum de fracció d'ejecció del ventricle esquerre, mesurada mitjançant imatge de ressonància magnètica (MRI), ens indica que els pacients no presenten insuficiència cardíaca funcional.

El NT-proBNP és un marcador per diagnosticar i avaluar una insuficiència cardíaca, aquesta és la fracció N-terminal alliberada del pro-BNP, que és una forma inactiva del pèptid natriurètic tipus B (BNP). Aquest pèptid és format quan hi ha un augment de la pressió o distensió de les parets ventriculars, per tant, quan hi ha una sobrecàrrega del cor. Es considera que valors superiors a 300 ng/L són indicatius d'insuficiència cardíaca.

La troponina T cardíaca (TnT) és un biomarcador específic del dany miocàrdic. Aquestes són alliberades quan hi ha un dany al múscul cardíac, indicant un possible infart o insuficiència cardíaca.

En aquest cas els valors conjunts de LVEF, pro-BNP i TnT ens indiquen que hi ha absència d'insuficiència cardíaca en els pacients i els controls.

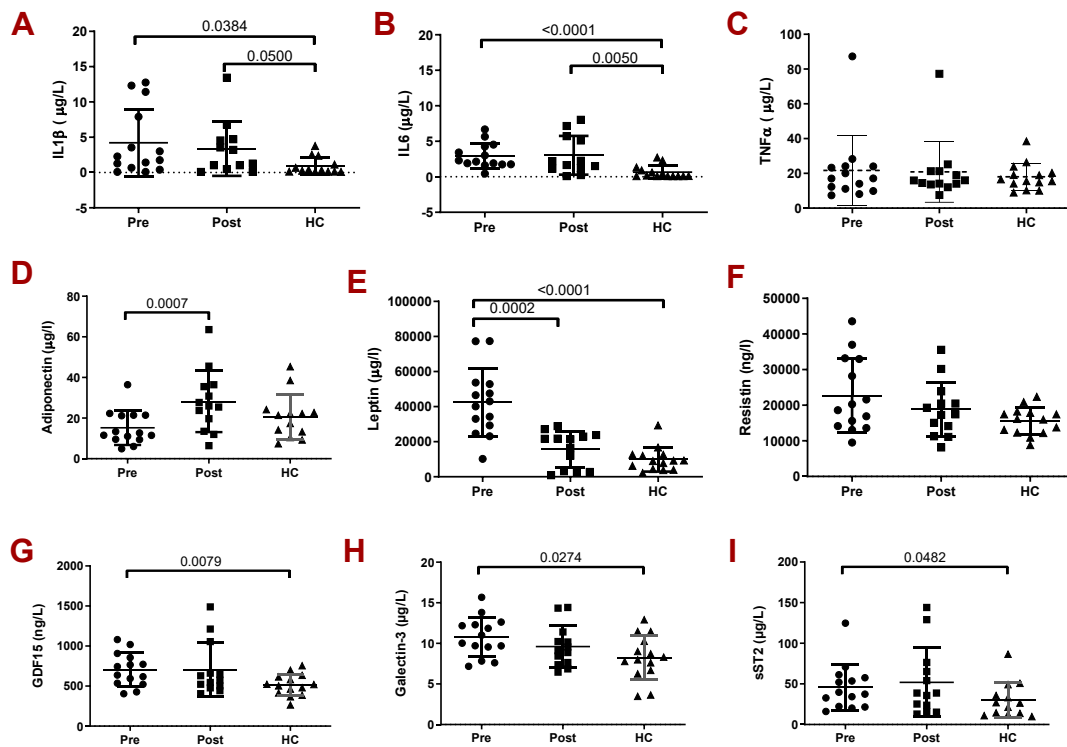


Figura 3. Biomarcadors d'inflamació i insuficiència cardíaca. Citoquines A) IL1 β ; B) IL6; C) TNF α ; Adipoquines D) Adiponectina; E) Leptina; F) Resistina; Marcadors d'insuficiència cardíaca (HF)/inflamació G) GDF15; H) Galectina 3; I) factor de supressió de tumorigenicitat 2 soluble (sST2). Les barres horitzontals indiquen les diferències estadísticament significatives.

S'aprecia un estat proinflamatori sistèmic als pacients amb obesitat en comparació amb els controls (IL1b i IL6), que es manté després de la cirurgia. També hi ha alteracions en les concentracions de les adipoquines leptina i adiponectina, estant la concentració de leptina augmentada i la d'adiponectina disminuïda en els pacients. Per acció de la cirurgia la leptina disminueix, en paral·lel amb un augment de l'adiponectina, una adipoquina amb un efecte protector a nivell CV, i per tant hi ha una millora de la capacitat antiinflamatòria.

Els marcadors GDF15, galectina 3 i sST2 són mediadors d'inflamació que s'han relacionat amb l'aparició precoç d'insuficiència cardíaca. Aquests marcadors es troben augmentats en els pacients obesos en comparació amb els controls, indicant un major risc de desenvolupar insuficiència cardíaca en els pacients obesos. La cirurgia bariàtrica no produeix canvis a la seva concentració en plasma.

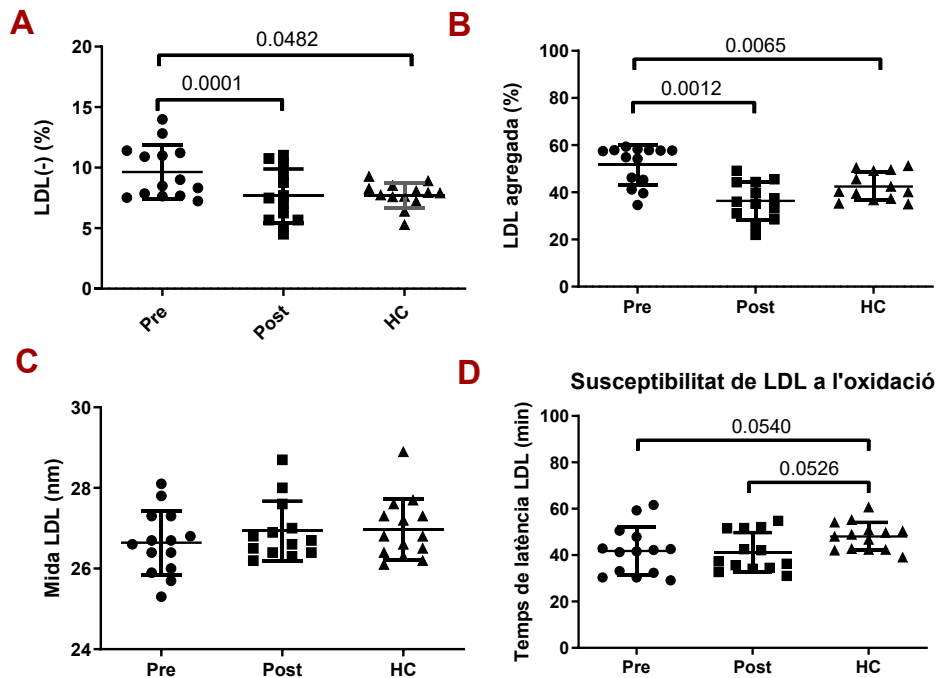


Figura 4. Paràmetres funció LDL. A) LDL(-); B) percentatge de LDL agregada; C) mida de LDL; D) susceptibilitat de la LDL a l'oxidació mesurada en temps de latència. Les barres horitzontals indiquen les diferències estadísticament significatives.

Respecte a les LDL, tot i que la seva concentració plasmàtica és normal, les característiques qualitatives es troben alterades en obesitat i milloren després de la cirurgia.

En el cas de la *figura 4A* de la LDL(-), que és una subfracció plasmàtica que inclou les partícules oxidades o modificades, i per tant més aterogèniques, es pot veure un % més gran en els pacients obesos respecte als controls i aquests valors es redueixen significativament en sotmetre's a la cirurgia bariàtrica.

Les partícules agregades de LDL són més propenses a ser captades pels macròfags i formar el que es coneixen com a cèl·lules escumoses a la paret arterial. Tot i que al plasma no existeix LDL agregada, la seva susceptibilitat a l'agregació induïda in vitro amb l'enzim SMasa ens dona un índex de la seva aterogenicitat. A la *figura 4B* es pot veure que hi ha una tendència similar a la gràfica anterior i és que els pacients abans de la cirurgia presenten valors majors d'aquesta LDL agregada respecte als controls i són revertits en realitzar-se la cirurgia.

La mida de les LDL és un factor important en el risc CV, ja que unes partícules més petites representen un factor aterogènic. En aquest cas de la *figura 4C* no es veuen diferències rellevants entre els grups estudiats.

Igual que passa amb la susceptibilitat a l'agregació, la susceptibilitat a l'oxidació de la LDL és un factor molt important en el potencial aterogènic. A l'assaig utilitzat aquí, com

més curta és la fase de latència, més gran és l'oxiditzabilitat, i per tant més gran l'aterogenicitat. Com es pot veure a la *figura 4D*, la cirurgia millora aquesta característica, ja que abans de la cirurgia els pacients amb obesitat presentaven un menor temps de latència, i per tant les LDL d'aquests pacients eren més susceptibles a oxidar-se en comparació als pacients control. Un cop realitzada aquesta cirurgia el temps de latència s'allarga, amb partícules que triguen més a oxidar-se. Tot i això, s'ha d'indicar que les diferències observades no arriben, per poc, a la significació estadística.

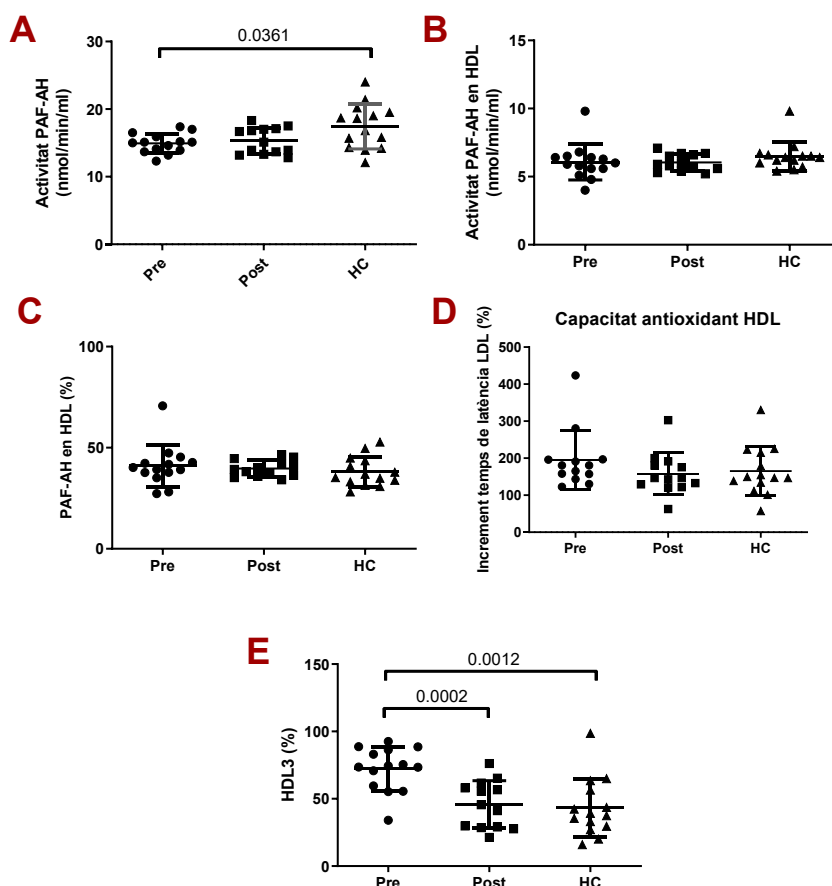


Figura 5. Paràmetres funció HDL i activitat PAF-AH. A) activitat PAF-AH; B) activitat PAF-AH en HDL; C) percentatge de PAF-AH en HDL; D) activitat antioxidant de HDL mesurada en increment del temps de latència de la LDL; E) percentatge HDL3. Les barres horitzontals indiquen les diferències estadísticament significatives.

La acetilhidrolasa del factor activador plaquetari (PAF-AH) és un enzim amb capacitat antiinflamatòria que està unit a les diferents lipoproteïnes en diferents proporcions. L'activitat PAF-AH total és menor en els pacients obesos respecte als controls, fet que indicaria una menor capacitat antioxidant i antiinflamatòria, que no es reverteix amb la cirurgia.

A la *figura 5B* no s'observen diferències representatives a l'activitat específica de la PAF-AH unida a l'HDL, indicant que no canvia la distribució entre lipoproteïnes de l'activitat PAF-AH amb la presència d'obesitat o després de realitzar-se la cirurgia.

La capacitat de la HDL de protegir l'oxidació de la LDL és una de les propietats antiaterogèniques d'aquesta lipoproteïna. Aquesta capacitat no està alterada amb la presència d'obesitat, ni es modifica per la cirurgia bariàtrica.

Respecte a la mida de les HDL, els pacients amb obesitat presenten una major proporció de HDL3, que són les partícules de HDL més petites, i que es normalitzen al realitzar-se la cirurgia.

Anàlisi de correlació

Tenint en compte l'anàlisi de correlació de Spearman del EAT amb diferents paràmetres com es pot veure a la *Taula 4*, el volum de greix epicàrdic augmenta significativament amb l'increment de pes, IMC, TG, cVLDL, GGT, PCR, TnT, mida LDL, %HDL3, temps de latència de LDL, IL6 i CAC. Per contra, el valor de volum epicàrdic disminueix significativament amb l'augment de paràmetres com la relació HDLc/A-I i l'adiponectina.

Taula 4. Anàlisi de correlació del EAT amb la resta de paràmetres.

	iEAT	
	p	r
Pes	0,02873324	0,38683063
IMC	0,04360602	0,35900259
TG	0,0104753	0,44619616
VLDL-C	0,01053059	0,44591129
Ratio HDLc/A-I	0,04772949	-0,35267162
GGT	0,0053635	0,48062541
PCR	0,04743822	0,35310416
TnT	0,00828977	0,45862701
Mida LDL	0,0255086	0,39438231
%HDL3	0,0289431	0,38636364
Temps latència LDL	0,02714104	0,39046747
Adiponectina	0,01056244	-0,4457478
IL6	0,0422654	0,36116417
CAC	0,02727885	0,39014589

Aquesta anàlisi ens dona una idea de quins paràmetres s'associen amb el volum d'EAT. Tot i això, per determinar exactament el grau d'associació entre els paràmetres determinats i l'EAT cal una anàlisi de regressió multivariant. Aquesta anàlisi encara no s'ha fet, però inicialment inclouria els paràmetres que s'associen més fortament amb el volum d'EAT i/o paràmetres que en estudis anteriors s'han vist associats a EAT. D'aquesta manera es pot veure si algun paràmetre pot ser un bon predictor del volum d'EAT. Per això cal fer una anàlisi de tipus corba ROC, o corba característica de funcionament del receptor, (de l'anglès *Receiver-operating characteristic*) l'anàlisi es podria aplicar també a un conjunt de paràmetres. Per exemple, en un estudi anterior realitzat al nostre grup en pacients amb diabetis tipus 2 es va determinar que una equació que incloïa edat, GGT i mida de LDL era un bon predictor del volum d'EAT (especificitat del 80%) (31).

En el cas dels pacients obesos del present estudi, es podria hipotetitzar que paràmetres més relacionats amb el pes i altres de funcionalitat de LDL o HDL podrien ser útils. Això seria degut al fet que ni l'edat ni la funció hepàtica estan seriosament alterades en els pacients obesos, ni aquests presenten diferències en la mida de LDL. En qualsevol cas, aquestes anàlisis estan encara pendents de ser realitzades.

També és important considerar que el nombre d'individus estudiats és molt baix, i els resultats que s'obtinguin seran només preliminars, i per tant haurien de ser confirmats en estudis que incloguessin molts més pacients.

CONCLUSIONS

1. El grup de pacients amb obesitat presentava el volum d'EAT elevat comparat amb el grup d'individus control, tot i no presentar ni diabetis, ni dislipèmia, ni marcadors elevats de malaltia arterioscleròtica avançada o insuficiència cardíaca.
2. Les concentracions plasmàtiques de diversos marcadors d'inflamació estaven augmentats al grup d'obesos, suggerint un important grau d'inflamació sistèmica en aquests individus.
3. Tot i l'absència de dislipèmia aterogènica, les LDL i HDL dels individus obesos presentaven alteracions funcionals, incloent-hi major grau de modificació de la LDL i menor potencial antiaterogènic la HDL.
4. La cirurgia bariàtrica normalitza el volum d'EAT i els valors d'adipoquines secretades pel teixit adipós (leptina i adiponectina), però persisteixen els valors elevats d'altres biomarcadors inflamatoris.
5. La cirurgia bariàtrica també millora diversos paràmetres de funció de la LDL (proporció de LDL(-) i LDL agregada) i de la HDL (normalitzant la mida de les partícules).
6. L'anàlisi de correlació mostra que diversos paràmetres estan relacionats amb el volum d'EAT, fins i tot alguns que no estan augmentats en els individus obesos comparats amb els controls.
7. Cal augmentar el nombre d'individus estudiats per fer una anàlisi multivariable més complet que permeti definir clarament quins biomarcadors s'associen més fortament amb el volum d'EAT.

BIBLIOGRAFIA

1. Obesidad y sobrepeso [Internet]. [citat 1 de setembre de 2025]. Disponible a: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 25 de maig de 2021;143(21):e984-1010.
3. Purnell JQ. Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity. En: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [citat 1 de setembre de 2025]. Disponible a: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279167/>
4. Sobrepeso y obesidad - Causas y factores de riesgo | NHLBI, NIH [Internet]. 2022 [citat 1 de setembre de 2025]. Disponible a: <https://www.nhlbi.nih.gov/es/salud/sobrepeso-y-obesidad/causas>
5. Welsh A, Hammad M, Piña IL, Kulinski J. Obesity and cardiovascular health. *Eur J Prev Cardiol*. 3 de juny de 2024;31(8):1026-35.
6. Genua I, Puig N, Miñambres I, Benítez S, Gil P, Grau-Agramunt M, et al. Changes in the Composition and Function of Lipoproteins after Bariatric Surgery in Patients with Severe Obesity. *J Clin Med*. 16 de abril de 2021;10(8):1716.
7. Pahwa R, Jialal I. Atherosclerosis. En: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citat 9 de juliol de 2025]. Disponible a: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507799/>
8. ¿Qué es la insuficiencia cardíaca? [Internet]. *Heart Failure Matters*. [citat 1 de setembre de 2025]. Disponible a: <https://www.heartfailurematters.org/es/conocer-la-insuficiencia-cardiaca/que-es-la-insuficiencia-cardiaca/>
9. Feingold KR. Introduction to Lipids and Lipoproteins. En: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [citat 1 de setembre de 2025]. Disponible a: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>
10. Estrada-Luna D, Ortiz-Rodriguez MA, Medina-Briseño L, Carreón-Torres E, Izquierdo-Vega JA, Sharma A, et al. Current Therapies Focused on High-Density Lipoproteins Associated with Cardiovascular Disease. *Mol Basel Switz*. 23 de octubre de 2018;23(11):2730.
11. American Heart Association. www.heart.org. 2024 [citat 1 de setembre de 2025]. HDL (Good), LDL (Bad) Cholesterol and Triglycerides. Disponible a: <https://www.heart.org/en/health-topics/cholesterol/hdl-good-ldl-bad-cholesterol-and-triglycerides>
12. Sniderman AD, Thanassoulis G, Glavinovic T, Navar AM, Pencina M, Catapano A, et al. Apolipoprotein B Particles and Cardiovascular Disease: A Narrative Review. *JAMA Cardiol*. 1 de desembre de 2019;4(12):1287-95.

13. Devaraj S, Semaan JR, Jialal I. Biochemistry, Apolipoprotein B. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citat 21 de juliol de 2025]. Disponible a: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538139/>
14. Mangaraj M, Nanda R, Panda S. Apolipoprotein A-I: A Molecule of Diverse Function. *Indian J Clin Biochem IJCB*. juliol de 2016;31(3):253-9.
15. Dra. Ada Cuevas M., Dr. Rodrigo Alonso K. Dislipidemia diabética. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2016;27(2):152-9.
16. Schofield JD, Liu Y, Rao-Balakrishna P, Malik RA, Soran H. Diabetes Dyslipidemia. *Diabetes Ther Res Treat Educ Diabetes Relat Disord*. juny de 2016;7(2):203-19.
17. Lima-Martínez MM, Blandenier C, Iacobellis G. Tejido adiposo epicárdico: ¿más que un simple depósito de grasa? *Endocrinol Nutr*. 1 de juny de 2013;60(6):320-8.
18. Iacobellis G, Barbaro G. Epicardial adipose tissue feeding and overfeeding the heart. *Nutrition*. 1 de març de 2019;59:1-6.
19. La grasa epicárdica se relaciona con la visceral, el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina en mujeres menopáusicas. *Rev Esp Cardiol*. 1 de juny de 2014;67(6):436-41.
20. Packer M. Epicardial Adipose Tissue May Mediate Deleterious Effects of Obesity and Inflammation on the Myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 22 de maig de 2018;71(20):2360-72.
21. Puig N, Rives J, Gil-Millan P, Miñambres I, Ginel A, Tauron M, et al. Apolipoprotein J protects cardiomyocytes from lipid-mediated inflammation and cytotoxicity induced by the epicardial adipose tissue of diabetic patients. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. juny de 2024;175:116779.
22. Liang W, Ye DD. The potential of adipokines as biomarkers and therapeutic agents for vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Cytokine Growth Factor Rev*. agost de 2019;48:32-9.
23. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA*. 4 de gener de 2012;307(1):56-65.
24. Packer M. Epicardial Adipose Tissue May Mediate Deleterious Effects of Obesity and Inflammation on the Myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 22 de maig de 2018;71(20):2360-72.
25. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA*. 4 de gener de 2012;307(1):56-65.
26. Kobiyama K, Ley K. Atherosclerosis. *Circ Res*. 26 de octubre de 2018;123(10):1118-20.

27. ¿Qué es Luminex Multiplex y por qué se utiliza? [Internet]. [citat 10 de agost de 2025]. Disponible a: <https://www.labclinics.com/2016/06/28/luminex-multiplex-usos-tecnologia/>
28. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. 1 de setembre de 1955;34(9):1345-53.
29. Radding CM, Steinberg D. Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins by rat liver slices. 1 de octubre de 1960;39(10):1560-9.
30. 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 IJBS. desembre de 2009;5(4):402-10.
31. Rives J, Gil-Millan P, Viladés D, García-Osuna Á, Genua I, Miñambres I, et al. Low-Density Lipoprotein Subfraction Phenotype Is Associated with Epicardial Adipose Tissue Volume in Type 2 Diabetes. J Clin Med. 28 de gener de 2025;14(3):862.