

Sandra García Castañón

Dislipemia mixta: caracterización
lipídica y proteica: marcadores de
riesgo cardiovascular

Departamento
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Director/es
Puzo Foncillas, José
Calmarza Calmarza, María Pilar

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Tesis Doctoral

**DISLIPEMIA MIXTA:
CARACTERIZACIÓN LIPÍDICA Y
PROTEICA: MARCADORES DE
RIESGO CARDIOVASCULAR**

Autor

Sandra García Castañón

Director/es

Puzo Foncillas, José
Calmarza Calmarza, María Pilar

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

2016

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina , Psiquiatría y Dermatología



Dislipemias mixtas:

Caracterización lipídica y proteica. Estudio de marcadores de riesgo cardiovascular.

Tesis doctoral para optar al grado de doctora en medicina por:

Sandra García Castañón

Bajo la dirección de los doctores:

Dr. D. José Puzo Foncillas

Dra. Dña. María Pilar Calmarza Calmarza

Zaragoza, 2015



D. José Puzo Foncillas, Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor Asociado del Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología de la Universidad de Zaragoza, Jefe del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Miguel Servet; y

Dña. María Pilar Calmarza Calmarza, Doctora en Medicina por la Universidad de Zaragoza y Facultativo Especialista de Área en el Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario Miguel Servet,

codirectores de esta Tesis Doctoral,

CERTIFICAN:

Que la memoria de Tesis Doctoral titulada: **“Dislipemias Mixtas: Caracterización lipídica y proteica. Estudio de marcadores de riesgo cardiovascular”**, presentada por Dña. Sandra García Castañón ha sido realizada bajo su dirección. Esta tesis supone una aportación original al conocimiento en este área y tiene un adecuado planteamiento, objetivos, discusión y conclusiones por lo que consideramos que puede ser presentada y defendida ante el Tribunal correspondiente, a efecto de optar al Grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza.

Zaragoza, a 13 de Noviembre de 2015

D. José Puzo Foncillas

Dña. María Pilar Calmarza Calmarza

A mis padres,

hermana y sobrinos

En primer lugar quisiera dar las gracias a mis tutores, Pepe Puzo y Pilar Calmarza, por la gran ayuda que me han prestado. Por su apoyo, sus consejos, sus mensajes de ánimo y sobre todo por confiar en mí. Sin ellos no hubiese sido posible acabar este trabajo. Muchísimas gracias.

A la Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet. Por acogerme y dejarme formar parte de sus sesiones, para aprender cada semana un poco más.

No puedo olvidarme de todos los compañeros/as que se han cruzado en este largo camino, desde el Miguel Servet hasta San Jorge. Desde Zaragoza hasta Huesca, no me he podido sentir más acompañada.

Gracias en especial a Marga, por pasarme su legado y transmitirme toda su experiencia con las ultras. Sería imposible encontrar una profesora mejor. En este apartado tampoco puede faltar Pepe, de nuevo, porque sus ideas, su arranque, sus ánimos fueron fundamentales. Y que decir del resto de compañeros... siempre dispuestos a cambiar cualquier guardia para poder dedicar un poco más de tiempo a la tesis. Sinceramente, creo que este trabajo es un poco compartido.

A todos los amigos: hospitalarios y extrahospitalarios, maños y extranjeros, de cañas y de bibliotecas, de gimnasio y de vinagres... Porque cada uno me hace sentir un poco más feliz.

A las chicas, mis hermanas postizas. Siempre a mi lado, cumpliendo y descumpliendo años... Acompañándome en los buenos y no tan buenos momentos. No he podido ser más feliz que con vosotras, y aunque ahora la distancia nos separe físicamente, siempre os sentiré a mi lado.

A las de siempre, a las de la Pola, porque lejos o cerca, y más o menos comunicadas estáis a mi lado continuamente. Estoy segura que seguiremos así.

Para finalizar quiero dar las gracias a mi familia. De una manera muy especial a mis padres, Pepe y Sari, por su dedicación a sus hijas, por su empeño en que la educación fuese nuestra prioridad y por transmitirnos la capacidad de esfuerzo que hace que logremos metas que a veces parecen inalcanzables. Y a mi hermana, constantemente

unidas; aún con puntos de vista diferentes, al final siempre al lado una de la otra. Y que decir de mis sobrinos, Saúl y Elsa, por y para ellos todo.

Gracias por estar conmigo y compartir este proyecto.

*Los sentidos se deleitan con las cosas
que tienen las proporciones correctas.*

Santo Tomás de Aquino

Abreviaturas

ABCA1	ATP-binding cassette protein A1
ACAT	Acil-CoA-colesterol-aciltransferasa
ALT	Alanina aminotransferasa
Apo A1	Apolipoproteína A1
Apo B48	Apolipoproteína B48
Apo B100	Apolipoproteína B100
CETP	Proteína transferidora de ésteres de colesterol
Crea	Creatinina
CT	Colesterol total
cVLDL	Colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad
cLDL	Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad
cHDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
cHDLd	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad y cuantificado por método directo en plasma total
cHDLuc	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad y cuantificado en la fracción de lipoproteína de alta densidad aislada por ultracentrifugación
c-noHDL	Colesterol no contenido en las lipoproteínas de alta densidad
ECV	Enfermedad cardiovascular
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular
GGT	Gamma-glutamil transferasa
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HMG-CoA reductasa	Hidroximetilglutaril-CoA reductasa
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IDL	Lipoproteínas de densidad intermedia
IMC	Índice de masa corporal
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferasa
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDL-apoB	Apo B100 contenida en las lipoproteínas de baja densidad

Lp(a)	Lipoproteína (a)
LPL	Lipoproteína lipasa
MTP	Proteína de transferencia de triglicéridos microsómicos
PAD	Presión arterial diastólica
PLTP	Proteína transferidora de ésteres de colesterol
PAS	Presión arterial sistólica
QLM	Quilomicrones
RCV	Riesgo cardiovascular
TG	Triglicéridos
TgVLDL	Triglicéridos unidos a lipoproteínas de muy baja densidad
TgLDL	Triglicéridos unidos a lipoproteínas de baja densidad
TgHDL	Triglicéridos unidos a lipoproteínas de alta densidad
TSH	Tirotropina
UC	Ultracentrifugación
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

ÍNDICE

Dislipemia mixta: caracterización lipídica y proteica. Estudio de marcadores de riesgo cardiovascular.	1
INTRODUCCIÓN	3
1.1. Enfermedad cardiovascular	4
1.1.1. Situación actual de la enfermedad cardiovascular.....	4
1.1.2. Factores de riesgo cardiovascular	7
1.1.3. Prevención de la enfermedad cardiovascular	11
1.2. Lípidos y lipoproteínas	12
1.2.1. Lípidos	12
1.3. Metabolismo de las lipoproteínas.....	20
1.4. Hiperlipemia mixta	25
1.4.1. Hiperlipemia Mixta Primaria	26
1.4.2. Hiperlipemia Mixta Secundaria.....	28
1.4.3. Diagnóstico	29
1.4.4. Aspectos terapéuticos	29
1.5. Revisión del problema	32
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	37
2.1. Hipótesis	37
2.2. Objetivos	38
MATERIAL Y MÉTODOS	39
3.1. Diseño del estudio	39
3.2. Población de estudio	39
3.2.1. Criterios de inclusión	39
3.2.2. Criterios de exclusión	40
3.2.3. Definición de la muestra.....	41
3.2.4. Variables de estudio.....	44
3.3. Metodología	45
3.3.1. Análisis bioquímicos	45
3.3.2. Ultracentrifugación	46

3.4. Análisis estadístico	49
RESULTADOS	51
4.1. Identificación de un patrón lipoproteico asociado a Dislipemias Mixtas	51
4.2. Evaluación del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad obtenido por distintos métodos	58
4.2.1. Fórmula de Friedewald	59
4.2.2. Ecuación de Cordova.....	66
4.3. Valoración del uso de colesterol no HDL y apo B100 como segundos objetivos	71
4.3.1. Correlación de variables	71
4.3.2. Clasificación de pacientes en base a objetivos primarios (cLDL) y secundarios (c-noHDL y apo B100)	75
4.4. Estimación de los remanentes de colesterol y valoración de su uso como marcadores de riesgo cardiovascular en la Dislipemia Mixta.....	81
DISCUSIÓN	87
5.1. Identificación de un patrón lipoproteico asociado a Dislipemias Mixtas	87
5.2. Evaluación de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad obtenido por distintos métodos	88
5.3. Valoración del uso de colesterol no HDL y apo B100 como segundos objetivos	91
5.4. Estimación de los remanentes de colesterol y valoración de su uso como marcadores de riesgo cardiovascular en la Dislipemia Mixta.....	96
CONCLUSIONES	98

Dislipemia mixta: caracterización lipídica y proteica. Estudio de marcadores de riesgo cardiovascular.

Las alteración en la concentración de lipoproteínas plasmáticas (dislipemias) está fuertemente asociada con la aparición de aterosclerosis. Diversos estudios demuestran que son el principal factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, no todas las hiperlipemias son igualmente aterogénicas.

Se considera hiperlipemia a la elevación plasmática de la concentración de colesterol total (CT), de triglicéridos (TG) o de ambos, por encima de los valores normales de la población general, tomando como punto de corte el percentil 90 ó 95 de la misma. La hiperlipemia mixta (o combinada) responde a un patrón de elevación de la concentración plasmática de ambos: colesterol y triglicéridos.

En las últimas décadas se han producido importantes avances tanto en los procedimientos diagnósticos como terapéuticos, en lo referido a las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, las dislipemias siguen constituyendo la primera causa de mortalidad y hospitalización en nuestro país. Es por ello, que se están desarrollando estudios epidemiológicos dirigidos a la identificación de factores asociados a un mayor riesgo cardiovascular.

Las guías clínicas europeas han planteado el uso del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDLc) como objetivo en el manejo de las dislipemias, pero en la mayoría de casos el LDLc que se utiliza es el obtenido mediante el cálculo matemático según la fórmula de Friedewald. Hemos de considerar, sin embargo que, en el escenario clínico de pacientes con hiperlipemia mixta, donde muchos tienen unos niveles elevados de triglicéridos, esta estimación no es válida. Es por ello que se están intentando estudiar

nuevos marcadores de riesgo y se proponen distintas estrategias de abordaje que permitan establecer el riesgo cardiovascular de dichos pacientes.

La mayoría de guías clínicas para el manejo de las dislipemias proponen el uso del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) como objetivo de las terapias hipolipemiantes. El colesterol no unido a las lipoproteínas de alta densidad aparece como segundo objetivo de tratamiento, junto con la apolipoproteína B100.

INTRODUCCIÓN

Hace unos 100 años, con el descubrimiento de la importancia del colesterol en el desarrollo de la arterosclerosis, comenzó una de las líneas más importantes de la investigación en cardiología. Es la historia de un compuesto simple, el colesterol, que ha sido objeto de miles de publicaciones y de varios premios Nobel (2).

De alguna forma, la historia comienza en 1913, cuando Nikolaj Anitschkow, un médico militar en San Petersburgo, indujo lesiones ateroscleróticas en ratones alimentándolos con una dieta rica en colesterol (3). En el siglo XIX, Rudolf Virchow y otros hicieron observaciones post-morten que condujeron al descubrimiento de que estas lesiones ateroscleróticas estaban cargadas de lípidos. De esta manera, el experimento de Anitschkow demostró que modificando la dieta se podía causar arterosclerosis, y el proceso iba acompañado de un cambio en los niveles plasmáticos de colesterol .

En la primera mitad de siglo XX el principal desarrollo para comprender el proceso aterosclerótico fue el entendimiento del colesterol y de las proteínas que lo transportan.

En 1985, Michael Brown y Joseph Goldstein recibieron el premio Nobel en medicina por su estudio sobre el funcionamiento del receptor de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y su papel crítico en el metabolismo lipídico y en el desarrollo de la arterosclerosis (4).

El estudio de Framingham fue el primer gran estudio de cohortes sobre enfermedad cardíaca. Se llevó a cabo en el año 1960 y demostró que los niveles de colesterol sanguíneos, junto con la hipertensión y el tabaco eran los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. En la puntuación del riesgo cardiovascular de Framingham figuran como factores principales el colesterol total, el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL).

La medida del colesterol fue usada primeramente como factor pronóstico, y después para hacer el seguimiento de los efectos de la terapia hipolipemiante. Sigue existiendo debate sobre como manejar el perfil lipídico del paciente, pero el pilar fundamental es un panel

lipídico simple que proporcione información sobre el colesterol total, cHDL, triglicéridos y una estimación del cLDL.

Durante décadas, la forma más fácil y barata de estimar cLDL fue mediante el uso de la fórmula de Friedewald. Sin embargo este cálculo presenta problemas de exactitud en las hipertrigliceridemias, y para concentraciones de triglicéridos superiores a 400 mg/dL no se recomienda su uso (2).

Los clínicos han puesto su atención en el colesterol no HDL (c-noHDL) como punto de mira en el manejo del paciente dislipémico. El razonamiento científico para este uso se basa en que tanto niveles altos de cLDL como de cVLDL son aterogénicos. Así, se han propuesto umbrales y objetivos de tratamiento de c-noHDL, en vez de cLDL (5).

1.1. Enfermedad cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de mortalidad y hospitalización en nuestro país, a pesar de los avances en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos que han tenido lugar en las últimas décadas. Ello es debido al progresivo envejecimiento de la población, al aumento de la obesidad y diabetes, y a la menor mortalidad por esas enfermedades, consecuencia de la mejor calidad asistencial. Por otro lado, esta situación ha sido parcialmente contrarrestada por factores ambientales favorables, como la disminución del tabaquismo, tras la prohibición de fumar en muchos lugares públicos.

Entre los individuos con hiperlipemia mixta existe un subgrupo que desarrolla enfermedad coronaria prematura y otro que no la desarrolla y se desconocen las causas de esta variabilidad intraindividual. Este subgrupo de pacientes presumiblemente presenta una distribución de lipoproteínas con propiedades más aterogénicas que el resto.

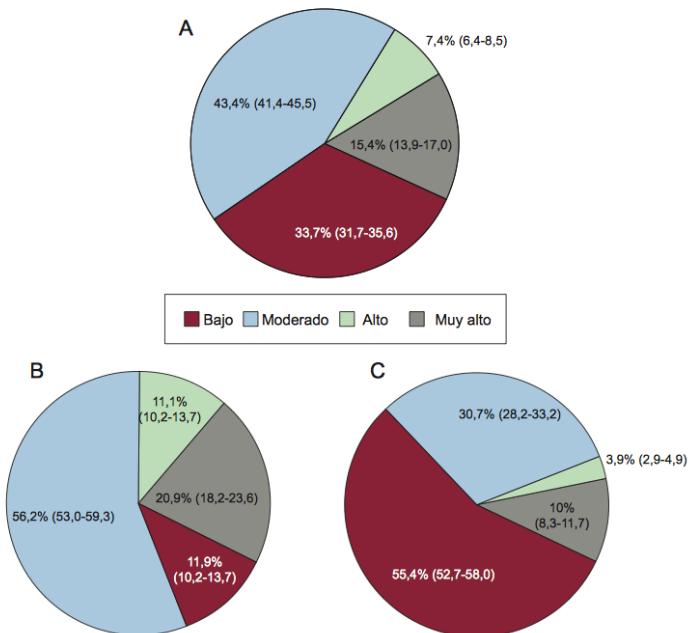
1.1.1. Situación actual de la enfermedad cardiovascular

Aunque la incidencia de la mortalidad por enfermedad coronaria y cerebrovascular ha

disminuido durante las últimas décadas, la enfermedad cardiovascular (ECV) sigue siendo la primera causa de muerte y discapacidad en España, al igual que en los demás países europeos (6, 7). La estrategia actual para la prevención de la ECV está basada en una evaluación multifactorial del riesgo, en base a las tablas SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*) y al cálculo del riesgo cardiovascular (RCV) basado en la escala Framingham (8, 9).

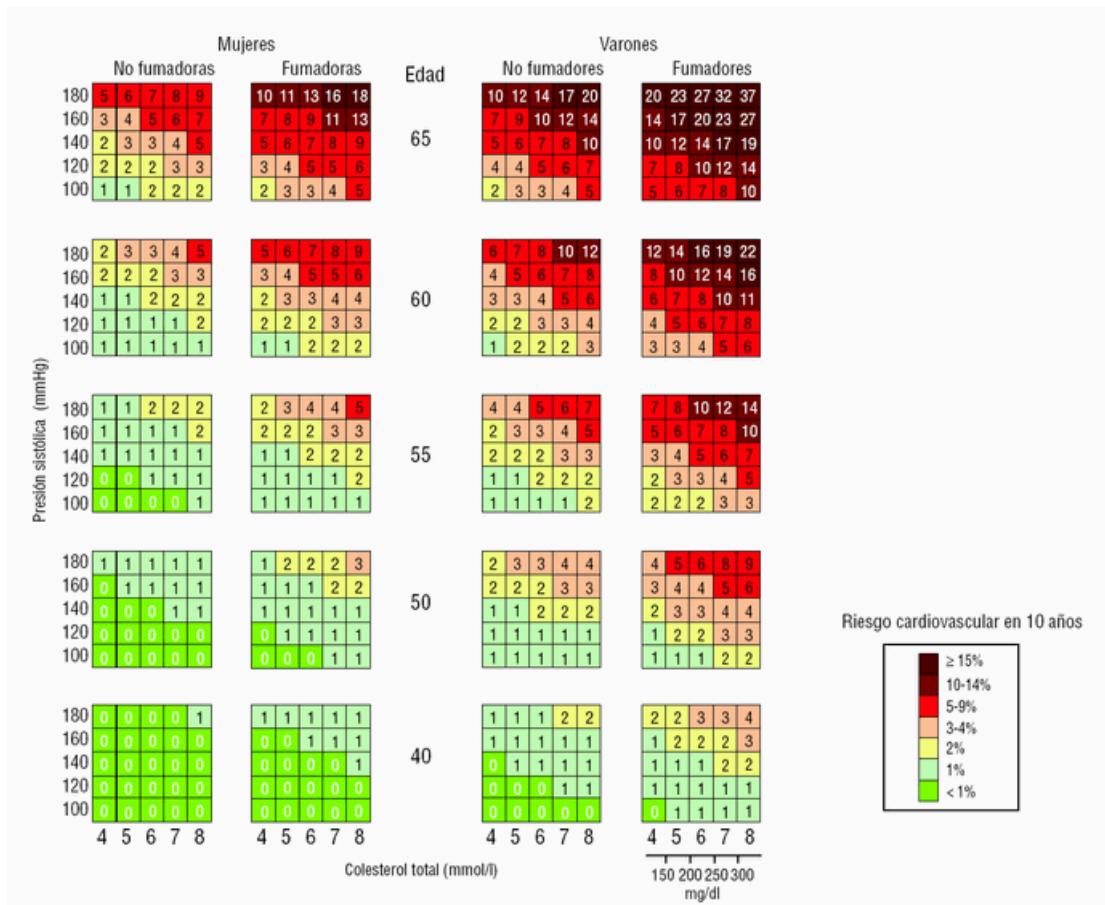
Según los resultados del estudio Di@bet.es, el 43,4% de la población en edades comprendidas entre 40 y 65 años en España presenta un riesgo cardiovascular moderado y, un 22,8% de la población muestra riesgo alto ó muy alto. En esta investigación también se observó que la prevalencia general del riesgo alto ó muy alto entre los varones era más del doble que entre las mujeres (figura 1). Aunque el sexo masculino es un factor de riesgo cardiovascular (FRCV) bien establecido y el riesgo de ECV durante la vida es más alto en los varones que en las mujeres, en España, según la *European Heart Network*, el porcentaje de muertes por ECV es superior en mujeres que en hombres, con porcentajes del 35 y el 27% respectivamente (10).

Figura 1. Riesgo cardiovascular estimado según la estrategia de la guía europea de prevención de enfermedad cardiovascular en la práctica clínica en la población de 40 a 65 años de edad, ajustado por edad y sexo, en la población española global (A), para hombres (b) y para mujeres (C). Los datos se presentan en forma de porcentaje e intervalo de confianza del 95% (10).



En España, según la región, actualmente se utilizan varias estrategias de valoración del riesgo para estimar el RCV, entre las cuales la tabla SCORE (figura 2) y la Framingham-REGICOR son las que gozan de mayor popularidad.

Figura 2. Tabla SCORE calibrada para España del riesgo estimado de mortalidad cardiovascular aterosclerótica en 10 años, para valores específicos de presión arterial sistólica y colesterol total, según hábito tabáquico, sexo y edad (11).



En nuestro país, a pesar de la mejora observada en el control de la hipertensión o la dislipemia durante los últimos años, la consecución de los objetivos terapéuticos en cuanto a los FRCV sigue siendo baja (12). Por otra parte, la prevalencia de factores de riesgo continúa aumentando, principalmente por la adopción de estilos de vida poco saludables (sedentarismo y consumo alimentario inadecuado) y por la elevada prevalencia de obesidad existente, en España próxima al 30% según el estudio Diabet.es (13). De hecho, si se evalúa la salud cardiovascular ideal en España, sólo el 0,2 y el 3,4%

de los participantes alcanzan los valores ideales de 7 ó 6 en los parámetros de salud cardiovascular respectivamente (12). No obstante, según lo descrito en el estudio EURIKA (14), se han observado tendencias similares en el control y la prevalencia de los factores de riesgo en otros países europeos, de tal manera que menos del 50% de los individuos alcanzan los objetivos de prevención primaria de presión arterial, lípidos y diabetes mellitus (10).

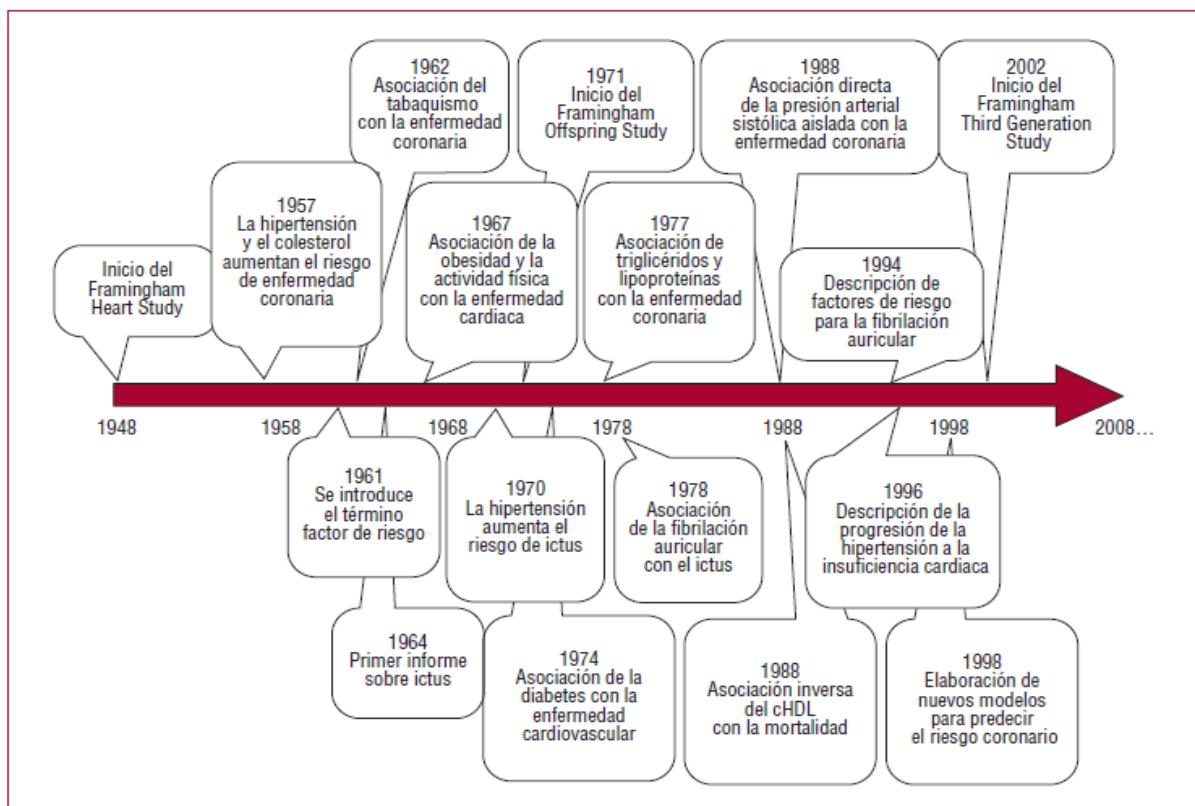
1.1.2. Factores de riesgo cardiovascular

La epidemiología estudia de la distribución y la frecuencia de la enfermedad y sus determinantes en la población. La epidemiología cardiovascular se comenzó a estudiar en los años treinta como consecuencia de los cambios observados en las causas de mortalidad. En los años cincuenta se pusieron en marcha varios estudios epidemiológicos para aclarar las causas de la enfermedad cardiovascular (ECV) (15-19). En 1948, el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos inició el Framingham Heart Study, con la finalidad de estudiar la epidemiología y los factores de riesgo de la ECV (20). La primera cohorte la formaron 5.209 habitantes sanos, de entre 30 y 60 años de edad, que se incorporaron al estudio en 1948, para la realización de exámenes bianuales que han continuado desde entonces (21).

En la figura 3 se resumen algunos de los principales resultados y momentos clave del Framingham Heart Study.

En este estudio se acuñó el término factor de riesgo, definiéndose como un elemento o una característica mensurable que tiene una relación causal con un aumento de frecuencia de una enfermedad y constituye factor predictivo independiente y significativo del riesgo de presentar la enfermedad de interés.

Figura 3. Resumen de algunos de los principales resultados y momentos clave del Framingham Heart Study (1)



El estudio de Framingham y otros estudios epidemiológicos contribuyeron a identificar otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular que ahora se consideran ya clásicos:

■ LÍPIDOS

La asociación entre el colesterol total y la aterosclerosis se confirmó mediante estudios epidemiológicos, que mostraron una relación muy fuerte entre las cifras de colesterol total en suero y el riesgo cardiovascular (19, 22, 23). A la vista de los resultados de esos estudios, los clínicos y los epidemiólogos coincidieron en que el colesterol plasmático total constituía un marcador útil para predecir la ECV. Estos resultados se confirmaron cuando se comprobó que el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), que

son las principales lipoproteínas de transporte de colesterol en la sangre, presentaba también una asociación directa con la ECV (24, 25). Además la concentración de colesterol de las LDL (cLDL) en los adultos jóvenes predice la aparición de ECV en una fase posterior de su vida (26, 27), lo cual respalda la idea de que se debe considerar la relación entre el cLDL y la aparición de ECV como un proceso continuo que se inicia en una etapa temprana de la vida. Las directrices actuales identifican el cLDL como el objetivo principal del tratamiento de la hipercolesterolemia (5). Una reducción del 10% en el colesterol sérico produce una disminución del riesgo de EC de un 50% a la edad de 40 años, del 40% a los 50 años, del 30% a los 60 años y del 20% a los 70 años (28).

Otros estudios estaban comenzando a poner de relieve el hecho de que los individuos con concentraciones altas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) tenían una probabilidad de padecer ECV inferior a la de los individuos con concentraciones de HDL bajas (24, 29). Se calcula que un aumento de 1 mg/dl en la concentración de HDL se asocia a una disminución del riesgo coronario de un 2% en los varones y un 3% en las mujeres (30).

El papel de los triglicéridos como factor independiente de riesgo de ECV ha sido siempre controvertido y, aunque se ha presentado alguna evidencia convincente, existen algunas dudas acerca del carácter independiente de la relación observada (31).

■ HIPERTENSIÓN

Los investigadores de Framingham describieron una asociación directa entre la presión arterial, independientemente de lo lábil que fuera, y el riesgo cardiovascular (32). Además, se observó que la hipertensión sistólica aislada era un potente factor de predicción de ECV (33).

En los individuos de 40 a 70 años, cada 20 mmHg de incremento de la presión arterial sistólica o 10 mmHg de incremento de la presión arterial diastólica se duplica el riesgo de ECV en todo el intervalo de valores de presión arterial que va de 115/75 a 185/115 mmHg (34).

■ TABAQUISMO

En el Framingham Heart Study se demostró que los fumadores presentaban un aumento del riesgo de infarto de miocardio o muerte súbita (15). Además, el riesgo estaba relacionado con el número de cigarrillos consumidos al día, y los ex fumadores tenían una morbimortalidad por ECV similar a la de los individuos que nunca habían fumado (15). Estos resultados se confirmaron en otros estudios epidemiológicos, y ello situó el tabaquismo como una cuestión altamente prioritaria en los programas de prevención.

■ DIABETES

La diabetes se asocia a un aumento de 2-3 veces en la probabilidad de aparición de ECV (35), y este aumento es mayor en las mujeres que en los varones (36); la intolerancia a la glucosa se asocia también a un aumento de 1,5 veces en el riesgo de aparición de ECV (37).

Se ha señalado que tanto la resistencia a la insulina (38), como el síndrome metabólico (combinación de resistencia a insulina y factores de riesgo de ECV) (39) son procesos frecuentes que favorecen la aparición de ECV, pero continúan existiendo ciertas dudas acerca de su mecanismo de acción y el valor añadido que aporta este diagnóstico respecto al diagnóstico individual de cada uno de los componentes (40).

■ INACTIVIDAD FÍSICA

Tras el primer estudio de Morris et al publicado en 1953 (41), diversos estudios epidemiológicos han confirmado que hay relación entre la inactividad física y la ECV (42). El riesgo relativo de muerte por ECV en un individuo sedentario es 1,9 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,6-2,2) en comparación con un individuo activo (42).

■ OBESIDAD

La obesidad es un trastorno metabólico crónico asociado a numerosas comorbilidades, como EC (43), ECV (44), diabetes mellitus tipo 2 (45), hipertensión (46), determinados cánceres y apnea durante el sueño.

Aparte de las alteraciones del perfil metabólico, cuando se acumula un exceso de tejido adiposo, se producen diversas adaptaciones de la estructura y las funciones cardiacas (47). De manera similar a lo observado con el cLDL, un estudio reciente ha indicado que tener un IMC más alto durante la infancia se asocia a un aumento del riesgo de ECV en la edad adulta, lo cual respalda el concepto de que se debe considerar la progresión de la aterosclerosis como un proceso continuo que se inicia en una fase temprana de la vida (48). Esta asociación parece ser más intensa en los niños que en las niñas y aumenta con la edad en ambos sexos (48).

1.1.3. Prevención de la enfermedad cardiovascular

Los primeros resultados del Framingham Heart Study pusieron de manifiesto que gran parte de la mortalidad prematura debida a ECV e ictus se producía en individuos con una propensión general a la aterosclerosis, y en el contexto de unos factores de riesgo identificados que aparecían mucho antes que los síntomas clínicos (49). Estas observaciones condujeron a un cambio de paradigma en la percepción de las causas de la ECV y alentaron a los médicos a poner mayor énfasis en la prevención, así como en la detección y el tratamiento de los factores de riesgo, además de facilitar a los individuos la percepción de que podían reducir personalmente su riesgo de ECV.

Las directrices actuales abordan el papel de los cambios de estilo de vida, el tratamiento de los principales factores de riesgo cardiovascular y el uso de diferentes medicaciones profilácticas para la prevención de la ECV clínica. El primer paso en este proceso es el cálculo del riesgo cardiovascular individual según la exposición a factores de riesgo (5, 50, 51). No obstante, sigue habiendo diferencias entre las distintas directrices en cuanto a los métodos de cálculo del riesgo cardiovascular, las definiciones de los umbrales de riesgo y las definiciones de qué pacientes deben ser tratados (52, 53).

Teniendo en cuenta que las enfermedades cardiovasculares continúan siendo la principal causa de mortalidad en los países industrializados, serán necesarios nuevos esfuerzos para reducir la carga que estas enfermedades suponen. En este contexto, las modificaciones del estilo de vida basadas en evitar el tabaquismo, la realización de actividad física regular y la mejora del control de la hipertensión podrían ser la intervención más efectiva en un ámbito poblacional. En España, se ha estimado que la

supresión del tabaquismo y el fomento de la actividad física podrían reducir el número de muertes por enfermedad coronaria en un 20 y un 18%, respectivamente (54); el control de la hipertensión podría reducir el número de muertes por enfermedad cerebrovascular en un 20-25% (54).

1.2. Lípidos y lipoproteínas

Los lípidos tienen importantes funciones en muchos aspectos de la vida: actúan como hormonas, sirven como fuente de energía, ayudan en la digestión y también tienen un papel estructural en las membranas celulares. Por otra parte, lípidos y lipoproteínas se encuentran directamente ligados al desarrollo de aterosclerosis, proceso patológico considerado el causante de las enfermedades cardiovasculares más comunes: infarto de miocardio, enfermedad cerebrovascular, y enfermedad vascular periférica (55).

1.2.1. Lípidos

Los lípidos son compuestos solubles en disolventes orgánicos y poco solubles en agua. Son compuestos orgánicos formados básicamente por carbono e hidrógeno, aunque pueden contener otros elementos químicos en menor proporción, como: oxígeno, fósforo, nitrógeno y azufre. La presencia de estos elementos proporciona a los lípidos una cierta polaridad que les permite interactuar con grupos polares.

Los lípidos se dividen en seis grupos si nos basamos en su estructura química: colesterol, ácidos grasos, acilglicéridos, esfingolípidos, prostaglandinas y terpenos.

Los lípidos sintetizados en el hígado y en el intestino son transportados en el plasma como complejos macromoleculares que conocemos como **lipoproteínas**.

1.2.2. Lipoproteínas

■ Características generales

Las lipoproteínas son partículas esféricas anfóteras, es decir que tienen una parte no polar en el núcleo de la misma, y que está formado fundamentalmente por triglicéridos y ésteres de colesterol, y una parte polar en la superficie, que contiene lípidos anfipáticos: fosfolípidos y colesterol libre. En su superficie contienen proteínas específicas denominadas **apolipoproteínas**.

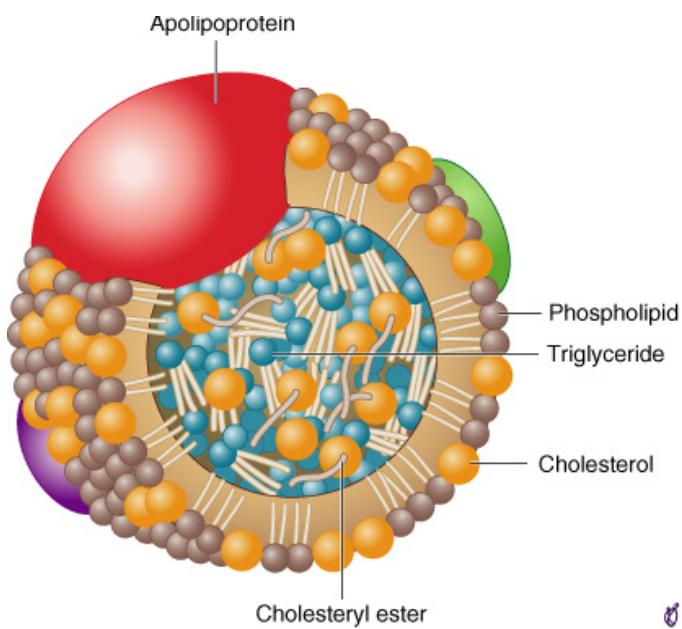


Figura 4. Estructura general de una lipoproteína.

El núcleo está compuesto por triglicéridos y ésteres de colesterol, recubiertos de una monocapa de fosfolípidos. Las apolipoproteínas incrustadas en esa capa fosfolipídica confieren a la molécula sus propiedades funcionales

Las uniones entre los lípidos y las apolipoproteínas son débiles y permiten el intercambio de lípidos y apolipoproteínas entre las lipoproteínas plasmáticas entre sí, y entre las lipoproteínas y las membranas celulares.

En función de la proporción de lípidos y proteínas de las lipoproteínas, éstas van a presentar diferentes propiedades físicas y químicas. Tradicionalmente se han clasificado en función de su densidad, de acuerdo a las fracciones que se obtienen al realizar una separación por ultracentrifugación. Esta clasificación incluye: quilomicrones (QLM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia

(IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteína (a) [Lp(a)] (tabla 1).

Tabla 1. Características de las lipoproteínas plasmáticas (55)

Variable	QLM	VLDL	IDL	LDL	HDL	Lp(a)
Densidad (g/mL)	<0,95	0,95-1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,210	1,040-1,13
Movilidad electroforética	-	Prebeta	Entre beta y prebeta	Beta	Alfa	Prebeta
Diámetro (nm)	>70	26-70	22-24	19-23	4-10	26-30
Ratio lípido: lipoproteína	99:1	90:10	85:15	80:20	50:50	75:25 64:36
Lípidos mayoritarios	TG exógenos	TG endógenos	TG endógenos, ésteres colesterol	Ésteres colesterol	Fosfolípidos	Ésteres colesterol, Fosfolípidos
Proteínas mayoritarias	A-I B-48 C-I C-II C-III	B-100 C-I C-II E	B-100 E	B-100	A-I A-II	(a) B-100

De mayor a menor a mayor tamaño tenemos, pues, quilomicrones, VLDL, IDL, LDL y HDL. Conviene, sin embargo, tener presente que se han definido diferentes tamaños y densidades de diferentes subtipos de VLDL, LDL y HDL y, por tanto, cada clase de lipoproteínas está constituida a su vez por diferentes subpoblaciones de partículas con un interés clínico aún por definir (56).

En general, las lipoproteínas más grandes contienen mayor porcentaje de lípidos (triglicéridos y ésteres de colesterol) en su núcleo, tienen menor densidad y menor cantidad de proteína.

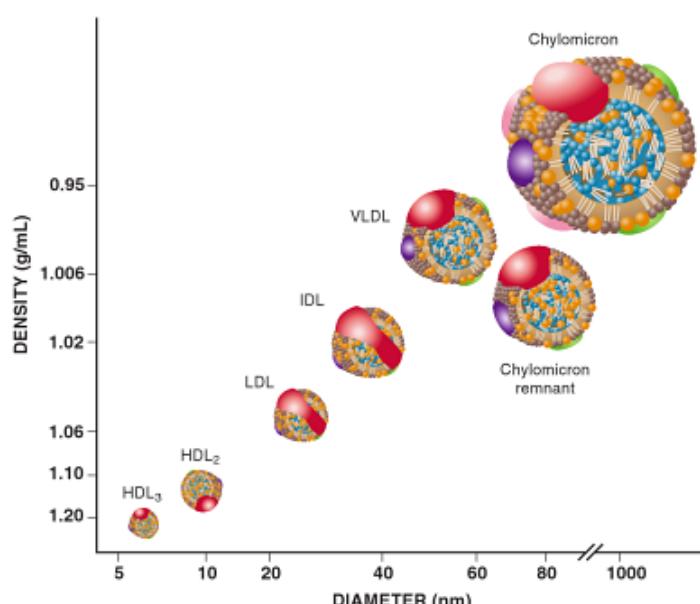


Figura 5. Tamaño de las lipoproteínas plasmáticas de acuerdo a sus densidades.

En estado de ayuno, la mayor parte de los triglicéridos se encuentran presentes en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). En estados postprandiales aparecen transitoriamente quilomicrones, contribuyendo significativamente a la concentración total de triglicéridos plasmáticos. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) transportan alrededor del 70% del colesterol total en plasma, pero muy poca cantidad de triglicéridos. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) contienen de un 20 a un 30% del colesterol plasmático (tabla 2).

Tabla 2. Composición química (%) de las lipoproteínas plasmáticas (1)

	Componentes superficiales			Lípidos del núcleo	
	Colesterol	Fosfolípidos	Apolipoproteínas	Triglicéridos	Ésteres colesterol
Quilomicrones	2	7	2	86	3
VLDL	7	18	8	55	12
IDL	9	19	19	23	29
LDL	8	22	22	6	42
HDL₂	5	33	40	5	17
HDL₃	4	25	55	3	13

Quilomicrones

Constituyen las partículas lipoproteicas más grandes y menos densas ($d < 0,95$ g/ml), con menos proporción proteica y con un gran componente lipídico, muy enriquecido en triglicéridos. Estas lipoproteínas contienen diversas apolipoproteínas, incluyendo apo B-48, apo AI, apo CII, apo CIII y apo E. En humanos, la forma molecular de apo B presente en los quilomicrones es la apo B-48, indicándose de esta forma que solo se expresa el 48% de la longitud de la proteína (que se denomina apo B100).

La principal función de los quilomicrones es aportar a los tejidos los lípidos obtenidos de la ingesta, principalmente triglicéridos (56).

Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

Las lipoproteínas de muy baja densidad, que suelen denominarse por sus iniciales en inglés, VLDL, son también partículas grandes, poco densas ($d < 1,006$ g/ml) y muy ricas en triglicéridos. También tienen una composición apolipoproteica similar a los quilomicrones, salvo en 2 aspectos esenciales: no contienen apo AI y presentan la forma completa de apo B (apo B100) porque en el hígado, lugar de síntesis de VLDL, no se

expresa la enzima editora de la apo B.

La apo B100 es la proteína estructural de VLDL y de las lipoproteínas que se sintetizan en buena parte a partir de su catabolismo: IDL y LDL y Lp(a). El principal estímulo para la síntesis de VLDL parece ser la captación y el catabolismo de quilomicrones residuales por parte del hígado.

La principal función de las VLDL es, de forma análoga a la de los quilomicrones, el transporte de triglicéridos y su suministro (en forma de ácidos grasos) a los tejidos muscular y adiposo (57).

Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)

Las lipoproteínas de densidad intermedia, o IDL ($d < 1,019 \text{ g/ml}$, $> 1,006 \text{ g/ml}$) son un grupo minoritario de lipoproteínas que tienen una composición apolipoproteica similar a las de VLDL. Estas lipoproteínas son, sin embargo, más pequeñas y densas que aquellas, presentando una menor proporción relativa de triglicéridos respecto al colesterol, como corresponde a su origen mayoritario como producto de la lipólisis de las VLDL.

Se cree que aproximadamente la mitad de las partículas de IDL son capturadas a nivel hepático por receptores que reconocen apo E, mientras que la otra mitad son convertidas en LDL mediante un proceso complejo en el que interviene la lipasa hepática (LH).

En una situación de ayunas como en la que se realizan la mayoría de análisis clínicos, las IDL proceden mayoritariamente de las VLDL. Sin embargo, en una situación posprandial o en algunas situaciones patológicas pueden producirse e incluso acumularse partículas de IDL que correspondan a quilomicrones residuales.

La enfermedad prototípico de acumulación de IDL es la disbetalipoproteinemia familiar, que es debida en parte a la presencia de variantes genéticas específicas de apo E (lo que se conoce como genotipo apo E2/E2) que parecen tener una menor afinidad por los receptores apo E específicos hepáticos (58).

Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Las lipoproteínas de baja densidad, o LDL ($d < 1,063 \text{ g/ml}$, $> 1,019 \text{ g/ml}$), se caracterizan por su contenido en apo B100 y tienen como componente lipídico mayoritario los ésteres de colesterol.

La función de las LDL es el transporte y entrega de colesterol a las células, incluyendo tejidos periféricos e hígado. Las LDL son reconocidas por los receptores de LDL situados en la membrana plasmática que reconocen apo B100 y apo E (59).

Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Las lipoproteínas de alta densidad, o HDL ($d < 1,21 \text{ g/ml}$, $> 1,063 \text{ g/ml}$), se caracterizan por su contenido en apo AI, teniendo también como componente principal los ésteres de colesterol. Su síntesis depende, por una parte, del catabolismo de las partículas ricas en triglicéridos (quilomicrones y VLDL) y, por otra parte, de la síntesis de apo AI, en un principio no asociada a lípidos, por parte del hígado y del intestino.

La más conocida de las funciones de las HDL es el transporte reverso de colesterol, aunque otras, como la inhibición de la modificación oxidativa de las LDL o su capacidad antiinflamatoria y antitrombótica, parecen también altamente relevantes.

La función de las HDL depende en buena parte de su contenido en apo AI, su apolipoproteína principal. Esta apolipoproteína facilita la salida del exceso de fosfolípidos y colesterol intracelular a través de mecanismos específicos que requieren consumo de energía (56).

Lipoproteína (a)

La lipoproteína a [Lp(a)] es una clase de lipoproteína relacionada estructuralmente con LDL. Ambas lipoproteínas tienen una molécula de apo B100 por partícula y tienen una composición lipídica similar. A diferencia de LDL, Lp(a) también contiene una proteína específica rica en carbohidratos apo(a) que se une covalentemente a apo B100 a través de un enlace disulfuro (55). Las partículas de Lp(a) están compuestas en una tercera parte por proteínas, otra tercera parte por lípidos y el resto son derivados hidrocarbonados. La porción proteica, o apo(a) es una proteína de peso molecular variable, desde 400 a 800kDa, constituida por un número también variable de aminoácidos (3600-7200) que forman una larga cadena, siendo su región terminal, o dominio de serín-proteasa, homóloga en un 94% a la de la molécula de plasminógeno; el resto de la cadena de aminoácido está organizada en regiones o unidades de 78 aminoácidos cada una, denominadas *kringles*. La primera región o *kringle* es semejante al *kringle 5* del plasminógeno y continúa con múltiples copias (13-17) del *kringle 4* de la molécula del plasminógeno, compartiendo una homología de un 61-75% con éste. Los lípidos que

forman parte de las partículas de Lp(a) son preferentemente ésteres de colesterol, aunque en ocasiones, especialmente en períodos postprandiales, sean abundantes los triglicéridos. El contenido hidrocarbonado es importante (un 28% de su peso), siendo por ello una proteína altamente glucosilada, con numerosos restos de ácido N-acetil-neuramínico (60).

■ Apolipoproteínas

Algunas de sus características físicas y las principales funciones de las apolipoproteínas (componentes proteicos de las lipoproteínas), se recogen en la tabla 3.

Cada lipoproteína tiene diferentes proporciones de apolipoproteínas. Así, apo AI es la proteína principal de HDL. Apo CI, II, III y E están presentes en distintas proporciones en todas las lipoproteínas. Apo B100 es la proteína principal de LDL, y apo B48 que se genera a partir del RNA mensajero de apo B100, por un proceso de escisión, se encuentra en los quilomicrones. Tanto apo B100 como apo B48 se encuentran fuertemente unidas a sus lipoproteínas y no sufren intercambio con otras lipoproteínas, a diferencia de lo que ocurre con el resto de apolipoproteínas.

Tabla 3. Clasificación y propiedades de las principales apolipoproteínas (55)

Apolipoproteína	Localización cromosómica	Función	Transportador lipoproteico
Apo A-I	11	Cofactor LCAT	QLM, HDL
Apo A-II	1	Desconocida	HDL
Apo A-IV	11	Activa LCAT	QLM, HDL
Apo B-100	2	Secreción de Tg desde el hígado hacia el receptor de LDL	VLDL, IDL, LDL
Apo B-48	2	Secreción de Tg desde el intestino	QLM
Apo C-I	19	Activa LCAT	QLM, VLDL, HDL
Apo C-II	19	Cofactor LPL	QLM, VLDL, HDL
Apo C-III	11	Inhibe la activación de LPL por apo C-II	QLM, VLDL, HDL
Apo E	19	Facilita la captación de remanentes de quilomicrones e IDL	QLM, VLDL, HDL
Lp(a)	6	Desconocida	Lp(a)

Las apolipoproteínas tienen como funciones principales:

- modular la actividad de las enzimas que actúan sobre las lipoproteínas
- mantener la integridad estructural de los complejos lipoproteicos
- facilitar la captación de lipoproteínas, actuando como ligandos para receptores específicos de superficie

■ Clasificación de las lipoproteínas

La primera clasificación de las hiperlipemias se basa en la separación electroforética de las mismas. Y constituye la clasificación de Fredrickson, la cual ha recibido la denominación de clasificación fenotípica (tabla 4).

Tabla 4. Clasificación fenotípica de las hiperlipemias (61)

Fenotipo	Lipoproteínas aumentadas	Lípidos aumentados
I	Quilomicrones	Triglicéridos
IIa	LDL	Colesterol total
IIb	LDL y VLDL	Colesterol total, triglicéridos y apo B100
III	VLDL	Colesterol total y triglicéridos
IV	VLDL	Triglicéridos y a veces disminución de HDL
V	Quilomicrones y VLDL	Triglicéridos

Las lipoproteínas pueden separarse por diferentes técnicas electroforéticas. A pH=8,6, las HDL migran en la región de las α -globulinas, las LDL en la región de las β -globulinas, y las VLDL y Lp(a) entre α - y β -globulinas, en la región de las pre- β -globulinas. Las IDL forman una banda ancha entre las β - y pre- β -globulinas. Los quilomicrones permanecen en el punto de aplicación. Las principales clases de lipoproteínas se nombran en relación a su localización electroforética:

- pre- β -lipoproteínas: VLDL
- β -lipoproteínas: LDL
- α -lipoproteínas: HDL

Existe otra clasificación de las hiperlipemias primarias que es conocida como clasificación genética y que incorpora datos sobre las características clínicas y genéticas de los pacientes e intenta clasificar las hiperlipemias en virtud de defectos genéticos conocidos (tabla 5).

Tabla 5. Clasificación genética de las hiperlipemias primarias

Alteración genética	Fenotipo	Riesgo cardiovascular	Defecto bioquímico
Hiperquilomicronemia	I, V	-	Lipoprotein lipasa, apo CII
Hipercolesterolemia familiar monogénica	IIa	+++	Receptores LDL
Hipercolesterolemia poligénica	IIa	+	Desconocido
Hiperlipemia familiar combinada	IIa, IIb, o IV	++	Desconocido
Hipertrigliceridemia	IV	+/-	Desconocido
Disbetalipoproteinemia familiar	III	++	Fenotipo E2/E2 y otros genes

1.3. Metabolismo de las lipoproteínas

El metabolismo de las lipoproteínas se divide clásicamente en varias rutas: 1) exógena, 2) endógena, 3) transporte de colesterol intracelular, y 4) transporte reverso de colesterol.

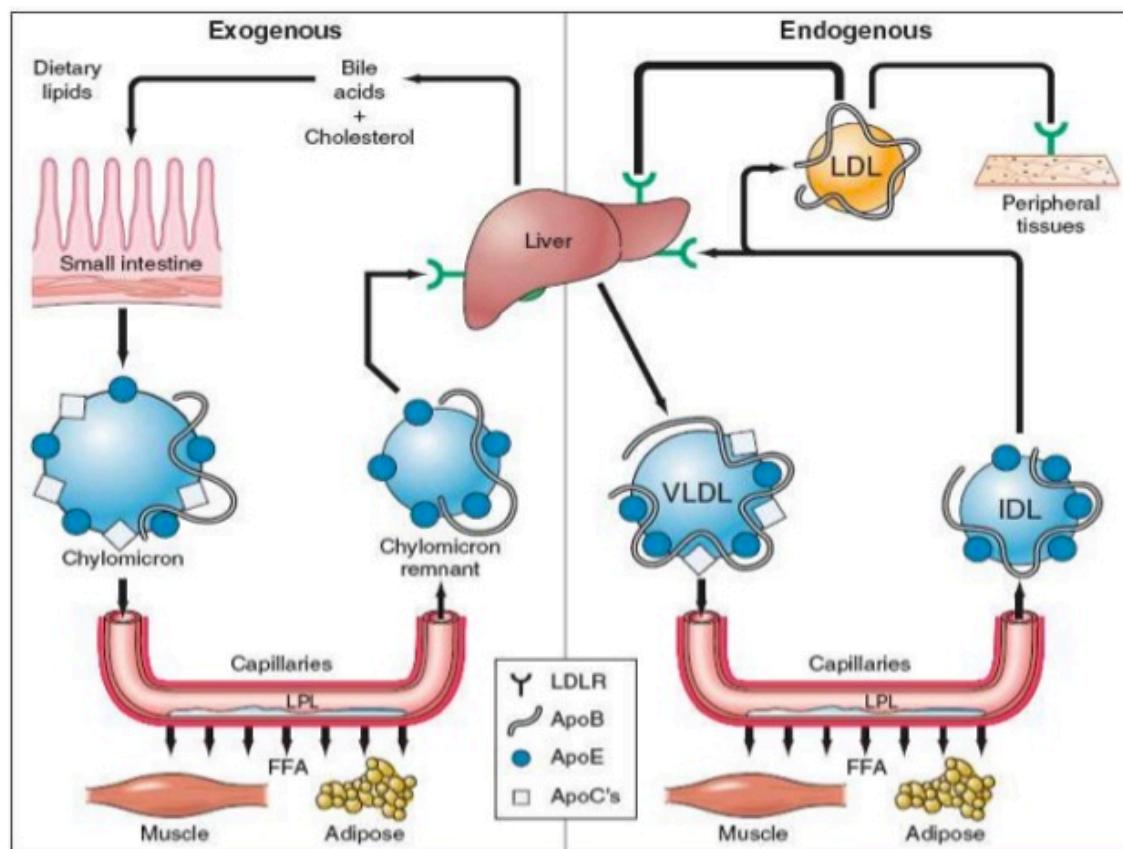
1. Vía exógena

La función de esta vía es el transporte de los lípidos de la dieta absorbidos en el intestino y que tiene como destino el hígado y los tejidos periféricos. Está mediada fundamentalmente por los quilomicrones.

Los quilomicrones incipientes, constituidos en un 90% de su masa por triglicéridos, se unen a la proteína microsomal transportadora de triglicéridos (MTP) en el retículo endoplasmático de los enterocitos, mediante la combinación de los triglicéridos y otros lípidos con apo B-48. Los quilomicrones son secretados a la circulación y adquieren de las HDL apolipoproteínas adicionales, como: apo E y las apo CII y CIII. Apo CII es un

potente activador de la lipoprotein lipasa (LPL), que se encuentra unida a la superficie de las células endoteliales e hidroliza rápidamente los triglicéridos de los quilomicrones para generar ácidos grasos libres. Los ácidos grasos liberados se combinan con la albúmina para ser utilizados como fuente de energía en las células musculares o bien se almacenan los triglicéridos como fuente de energía en las células adiposas. Consecuencia de la lipólisis, los quilomicrones se transforman en lo que conocemos como remanentes de quilomicrones, partículas más pequeñas, con un exceso en su superficie de fosfolípidos y que han transferido, de vuelta, las apo A al HDL. Los remanentes de quilomicrones, sin embargo, mantienen la mayoría de sus triglicéridos. Pero a diferencia de los quilomicrones incipientes, los remanentes son captados inmediatamente por el hígado a través de receptores de remanentes, que reconocen apo E y apo B-48. Los triglicéridos que alcanzan el hígado sufren β -oxidación para proveer energía en la actividad biosintética del hígado. También son almacenados en gotas lipídicas intracelulares o empaquetados con apo B100 y secretados en partículas de VLDL.

Figura 6. Vía exógena y endógena del metabolismo de las lipoproteínas



2. Vía endógena

La función primaria de la vía endógena es transferir los derivados lipídicos hepáticos, principalmente triglicéridos, a las células periféricas para el metabolismo energético. Esta ruta está mediada por las lipoproteínas que contienen apo B100. Los derivados lipídicos hepáticos representan tanto los lípidos que son sintetizados en el hígado como aquellos que han sido transferidos al hígado por la vía exógena. Las VLDL son las principales lipoproteínas con contenido de apo B100 secretadas por el hígado. Aproximadamente el 55% de su peso son triglicéridos, y también contienen una molécula de apo B100 y apo E, apo CII y apo CIII. Como en el caso de los quilomicrones, la apo C-II presente en la superficie de VLDL activa la LPL en las células endoteliales, dando lugar a la hidrólisis de los triglicéridos de las VLDL y liberándose ácidos grasos libres que serán captados por las células periféricas. La lipólisis progresiva de los triglicéridos del núcleo de las VLDL las transforma en IDL y después en LDL. Aproximadamente la mitad de las partículas que contienen apo B-100 son eliminadas por los receptores hepáticos de remanentes antes de sufrir una lipólisis completa, y la porción restante se convierte finalmente en LDL. La proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) reemplaza los triglicéridos de las LDL por ésteres de colesterol procedentes de las HDL.

Durante la transformación lipolítica, las VLDL disminuyen su tamaño para generar partículas de LDL, más pequeñas. El exceso de fosfolípidos y apolipoproteínas, excepto la apo B100, es transferido a las HDL.

Aunque casi todas las células expresan receptores de LDL, la mayor parte de LDL retorna finalmente al hígado vía receptor de LDL, que reconoce apo B100. Este colesterol que regresa al hígado se utiliza para la secreción de nuevas lipoproteínas, en la producción de sales biliares o bien es excretado directamente en la bilis.

3. Vía de transporte intracelular de colesterol

Esta vía representa varios mecanismos homeostáticos que las células usan para mantener su equilibrio de colesterol. A pesar de que el colesterol es un componente necesario y crítico en las membrana celulares, un exceso del mismo puede alterar sus propiedades

biofísicas y llegar a ser tóxico para la células. Junto a la producción mediante la biosíntesis, las células también reciben colesterol vía captación de las lipoproteínas extracelulares a través de sus receptores superficiales, como por ejemplo el receptor de LDL. Muchos receptores de lipoproteínas proporcionan a los lisosomas la partícula de lipoproteína intacta, y es allí donde se degrada. Algunas de las apolipoproteínas generan pequeños péptidos y aminoácidos. Los ésteres de colesterol se transforman mediante la acción de la lipasa ácida lisosomal en colesterol libre.

Dado que algunas células no catabolizan el colesterol adicional, parte de él es:

- Usado para la biogénesis de la membrana
- Almacenado en gotas lipídicas intracelulares después de ser reesterificado por la acil-CoA-colesterol-aciltransferasa (ACAT)
- Transportado mediante la vía de transporte reverso

Las células tienen un mecanismo complejo de regulación transcripcional y post-transcripcional, de forma que un exceso de colesterol intracelular puede inhibir la biosíntesis adicional de colesterol mediante regulación negativa de la hidroximetilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA) y otras enzimas de la síntesis del colesterol. Este exceso intracelular también puede inhibir la expresión de los receptores de LDL e inducir la síntesis de las proteínas involucradas en el transporte reverso del colesterol.

El mecanismo principal mediante el cual las estatinas disminuyen la incidencia de eventos coronarios es el bloqueo de la síntesis de colesterol, que produce una regulación positiva de los receptores de LDL. El aumento de los receptores de LDL, particularmente en el hígado, elimina las partículas de LDL (pro-aterogénicas) de la circulación, explicando el efecto antiaterogénico de las estatinas.

Los macrófagos expresan altas concentraciones de diferentes tipos de receptores *scavenger*, que reconocen LDL oxidadas u otras formas modificadas de LDL. A diferencia de los receptores de LDL, los receptores *scavenger* no son regulados en respuesta a la concentración intracelular de colesterol. Esta es una de las principales

razones por las que los macrófagos son propensos a acumular el exceso de colesterol en gotas lipídicas intracelulares y formar lo que se conoce como células espumosas, que juegan un papel principal en el desarrollo de la placa aterosclerótica.

4. Vía de transporte reverso de colesterol

La función del transporte reverso del colesterol es retirar el exceso de colesterol celular desde las células periféricas y devolverlo al hígado para su excreción. Este proceso es mediado en gran parte por HDL.

Puesto que muchas de las células periféricas no catabolizan el colesterol ni lo secretan como lipoproteínas, éste puede llegar a ser tóxico para las mismas. Las HDL ayudan a las células mediante diferentes mecanismos para eliminar ese exceso de colesterol.

La formación y metabolismo de las partículas de HDL es complejo ya que sus componentes tienen una procedencia múltiple.

La apolipoproteína A-I, que es su componente principal, se sintetiza en hígado e intestino, interacciona con la *ATP-binding cassette protein 1* (ABCA1) y es secretada a la circulación sanguínea como una partícula lipídica pobre en apo A-I. Estos lípidos, pobres en apo A-I, interaccionan con el receptor ABCA1 y remueven el exceso de colesterol intracelular, formándose pre-β-HDL o HDL naciente. El colesterol de las HDL nacientes es esterificado dentro de la molécula de HDL naciente por la enzima lecitina colesterol acetil transferasa (LCAT). Los ésteres de colesterol que se forman ocupan el núcleo de la lipoproteína y, en sucesivos ciclos, la partícula va agrandándose y adopta forma esférica, transformándose en una partícula HDL3.

Las partículas de apo A-I libres, moléculas de HDL nacientes que no han sufrido la esterificación de su colesterol, son eliminadas por el riñón.

Las moléculas de HDL3 pueden seguir esterificando sus moléculas de colesterol por la enzima LCAT y son transformadas en HDL2. A su vez, las moléculas de HDL2 son transformadas en HDL3 por acción de la lipasa hepática.

El colesterol esterificado de las moléculas HDL2 y HDL3 puede ser selectivamente captado por el hígado por medio del receptor *scavenger* clase BI o *SR-BI*, hidrolizando los ésteres de colesterol y empleando el colesterol libre formado para ser eliminado en la bilis o para su utilización en la formación de ácidos biliares.

Existe una vía indirecta de transporte reverso de colesterol donde se transfieren ésteres del colesterol a las lipoproteínas que contienen apo B, principalmente VLDL y LDL. En esta vía las moléculas de HDL2 como de HDL3 transfieren ésteres de colesterol a las VLDL/LDL por medio de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), y a su vez las moléculas de HDL adquieren fosfolípidos de las moléculas de VLDL/LDL, por medio de la enzima proteína transferidora de fosfolípidos (PLTP). Así pues, el colesterol celular recogido por las HDL acaba en las VLDL/LDL, desde donde puede ser cedido a los tejidos, fundamentalmente al hígado.

1.4. Hiperlipemia mixta

Las dislipemias mixtas (o combinadas) pueden definirse como un exceso de la concentración plasmática de colesterol y triglicéridos a la vez. Predominantemente, nos referimos a los fenotipos IIB y III (según Fredrickson).

Es decir, estaríamos ante los siguientes patrones lipídicos:

- VLDL y LDL - hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia - tipo IIB.
- IDL - hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia - tipo III.

No obstante, cabe incorporar, igualmente, los fenotipos I (con hiperquilomicronemia) y V (con aumento de quilomicrones y VLDL), que también pueden presentar hiperlipemia mixta.

1.4.1. Hiperlipemia Mixta Primaria

Las hiperlipoproteinemias primarias se clasifican en distintos tipos, según el fenotipo y sus características (tabla 6). Las más frecuentes son la hiperlipemia familiar combinada y la hiperlipemia de tipo III o disbetaipoproteinemia familiar, hiperlipemia mixta por definición.

Tabla 6. Clasificación de las hiperlipoproteinemias primarias.

Denominación y tipo	CT	Tg	Herencia	Defecto responsable	Frecuencia (población general)
Hiperlipemia exógena por déficit de LPL (tipo I)	↑	↑↑	Recesiva	LPL	Poco frecuente
Hiperlipemia familiar combinada (tipo IIB)	N ó ↑	N ó ↑	Dominante	Desconocido	Heterocigoto: 1/100 Homocigoto: 3-5/1.000
Disbetaipoproteinemia familiar (tipo III)	↑	↑	Recesiva	Apo E	1/10.000
Hiperlipemia mixta, exógena y endógena (tipo V)	↑	↑↑	Recesiva	¿Déficit selectivo de LDL?	3/1.000
Déficit familiar de apo CII (tipo V)	↑	↑↑	Recesiva	Apo CII	Poco frecuente

En la **hiperlipemia familiar combinada (HFC)** la concentración de colesterol plasmático se encuentra entre 260-300 mg/dl y la de TG, aunque varía mucho, entre 250 y 450 mg/dl. A menudo se encuentra un valor disminuido de cHDL < 35 mg/dl. Una apo B100 > 130 mg/dl es un hallazgo frecuente en la HFC y corresponde a un aumento de partículas de muy baja (VLDL) y baja (cLDL) densidad en este trastorno. Las partículas de cLDL suelen ser pequeñas y densas, mucho más aterogénicas que las cLDL normales, lo que le confiere un alto riesgo cardiovascular, estando presente hasta en el 40% de los supervivientes de un infarto de miocardio.

La **hiperlipoproteinemia tipo III** es un trastorno del metabolismo lipídico de origen genético que se presenta en la clínica como una hiperlipemia mixta severa, es decir, con elevación de colesterol y triglicéridos plasmáticos, habitualmente por encima de 350 mg/dl y con concentraciones similares para ambos.

El exceso de colesterol y triglicéridos plasmáticos se debe a un aumento de lipoproteínas con movilidad beta en la electroforesis, denominadas beta-VLDL. Estas lipoproteínas son partículas remanentes que proceden de los quilomicrones de origen intestinal y del catabolismo periférico de las VLDL de origen hepático. Debido a que la hiperlipoproteinemia tipo III se produce por acúmulo de partículas beta (remanentes), a veces, se le ha dado el sobrenombre de "enfermedad de la beta ancha" y, más frecuentemente, el de "disbetalipoproteinemia". Sin embargo, en la actualidad distinguimos dos conceptos diferentes:

1. Disbetalipoproteinemia: aumento de partículas beta-VLDL plasmáticas pero sin hiperlipoproteinemia, es decir, con concentraciones totales de colesterol y triglicéridos normales.
2. Hiperlipoproteinemia tipo III: hiperlipoproteinemia secundaria a disbetalipoproteinemia.

En esta dislipemia existe una alteración de la Apo E. Esta apolipoproteína es imprescindible para la unión de las lipoproteínas ricas en triglicéridos a los receptores hepáticos, una vez se han transformado por acción de la lipoproteinlipasa endotelial. La Apo E es polimórfica en la población general en la que se encuentran tres alelos frecuentes. El alelo más común es el Apo ε3. La mutación frecuentemente asociada a la hiperlipoproteinemia tipo III es la ε2/ε2, es decir, homocigosis para el alelo ε2, que en presencia de otros factores adicionales (edad, sobrepeso, diabetes, etc.) da lugar a las manifestaciones clínico-analíticas de la hiperlipoproteinemia tipo III. También existen formas dominantes de hiperlipoproteinemia tipo III debidas a la presencia de isoformas raras de Apo E como Arg136Ser, Arg136Cys, Gly127Asp, y que son proteínas mutadas que tienen una capacidad de unión al receptor de LDL disminuida, y por tanto, dan lugar a la acumulación de estos remanentes.

Es característica la presencia de depósitos lipídicos en los surcos de las palmas de las manos, llamados xantomas de las estrías palmares, que son patognomónicos de la hiperlipoproteinemia tipo III. La cardiopatía isquémica es la causa principal de muerte en la hiperlipoproteinemia tipo III, y como ocurre en la hipercolesterolemia familiar suele adelantarse una década en los varones con respecto a las mujeres. En el momento del diagnóstico, aproximadamente el 50% de los sujetos son sintomáticos para alguna lesión de arteriosclerosis. Los accidentes vasculares periféricos suelen ser casi tan frecuentes como los coronarios, mientras que los cerebrales parecen estar sólo discretamente elevados con respecto a población control.

Los factores que aumentan la producción de VLDL, como la hiperlipemia familiar combinada, dietas ricas en grasa saturada y/o colesterol, la diabetes mellitus o la obesidad son claves para que los individuos $\epsilon 2/\epsilon 2$ expresen la dislipemia. Del mismo modo, los factores que disminuyen el número o afinidad de los receptores hepáticos empeoran la hiperlipoproteinemia, entre ellos tenemos la edad, el hipotiroidismo y la menopausia.

En la actualidad, la presencia de una hiperlipemia mixta en presencia de un genotipo de Apo E compatible con disbetaipoproteinemia ($\epsilon 2/\epsilon 2$ o mutantes dominantes de la Apo E) es suficiente para hacer el diagnóstico de hiperlipoproteinemia tipo III. Esto simplifica el diagnóstico ya que la ultracentrifugación es un meétodo caro, laborioso y no exento de errores. Por tanto, la observación de un genotipo $\epsilon 2/\epsilon 2$ o bien la presencia de una variante rara de Apo E asociados a una hiperlipidemia, confirma el diagnóstico de hiperlipoproteinemia tipo III.

1.4.2. Hiperlipemia Mixta Secundaria

Las hiperlipoproteínas mixtas secundarias se pueden clasificar, por su fenotipo según su etiología. El reconocimiento de estas formas de hiperlipoproteinemias se hace necesario al constituir, al igual que las primarias, un importante factor de riesgo coronario. Suelen corregirse al controlar la causa subyacente cuando es posible, pero si persiste la dislipemia, por su alta capacidad aterogénica requiere tratamiento farmacológico y

modificaciones del estilo de vida para disminuir el riesgo cardiovascular global de los sujetos que la padecen.

1.4.3. Diagnóstico

El primer planteamiento ha de ser discernir si se trata de una dislipemia primaria o estamos ante una dislipemia secundaria. Son de gran ayuda e interés los antecedentes familiares de anomalías lipídicas o enfermedades relacionadas con las mismas.

Partiendo de la historia clínica del paciente, podemos valorar diferentes circunstancias, fisiológicas o patológicas, que influyan en la concentración plasmática de los lípidos.

Dentro del contexto de la historia clínica, hemos de considerar que la principal manifestación de una hiperlipemia primaria suele ser la enfermedad coronaria a edades tempranas de la vida (a lo largo de la cuarta década), del mismo modo que suele asociarse a obesidad, hiperinsulinismo, intolerancia hidrocarbonada y diabetes mellitus.

En la exploración física hay que buscar la existencia de arco corneal, xantelasmias, lipemia retinalis, xantomas tendinosos o cualquier otro dato que apunte a la existencia de una causa específica.

Como apoyo a la valoración clínica, contamos con las variables lipídicas. Con ellas podremos establecer (o hacer una aproximación) al fenotipo de la alteración en estudio. A partir de aquí, sigue todo el proceso de: establecer diagnóstico preciso (habiendo descartado otras situaciones similares) y diseñar la intervención específica.

1.4.4. Aspectos terapéuticos

El tratamiento de las hiperlipoproteinemias mixtas se justifica desde dos puntos de vista fundamentales:

1. El tratamiento de la hipercolesterolemia se traduce en una significativa disminución de la morbi-mortalidad por ECV.
2. La normalización de las hipertrigliceridemias evita ataques de dolor abdominal y episodios de pancreatitis aguda.

La dieta es el principal factor exógeno que influye sobre las grasas plasmáticas siendo, además, una variable susceptible de ser modificada. Su importancia reside no sólo en que la trasgresión dietética puede determinar la existencia de una de las denominadas dislipemias inducidas por la dieta, sino que también influiría, acentuándolas, sobre las demás alteraciones lipídicas de base genética.

Por estas razones, el tratamiento dietético de las hiperlipemias es una medida fundamental en el manejo del paciente con dislipemia y debe instaurarse en el momento en que las cifras de lípidos superen el objetivo clínico a conseguir.

Los cambios dietéticos que se han de seguir en tales casos implican disminuir la ingesta de grasas saturadas y colesterol, dando un papel principal al consumo de grasas poli- o monoinsaturadas.

Es preciso indicar que la disminución de las variables lipídicas, por medio de la intervención dietética, puede tardar 2-3 meses en observarse.

Por lo que respecta al ejercicio físico, considerado un coadyuvante de la dieta específica, se indica (para todos aquellos sujetos en los que no exista una contraindicación derivada de situaciones de comorbilidad), la práctica de ejercicio físico, adaptado a cada caso (en función de la edad y el sexo).

Si las intervenciones realizadas con la dieta específica y la práctica de ejercicio no nos permiten alcanzar los objetivos establecidos, se ha de avanzar al segundo nivel de intervención: el tratamiento farmacológico.

Tratamiento farmacológico

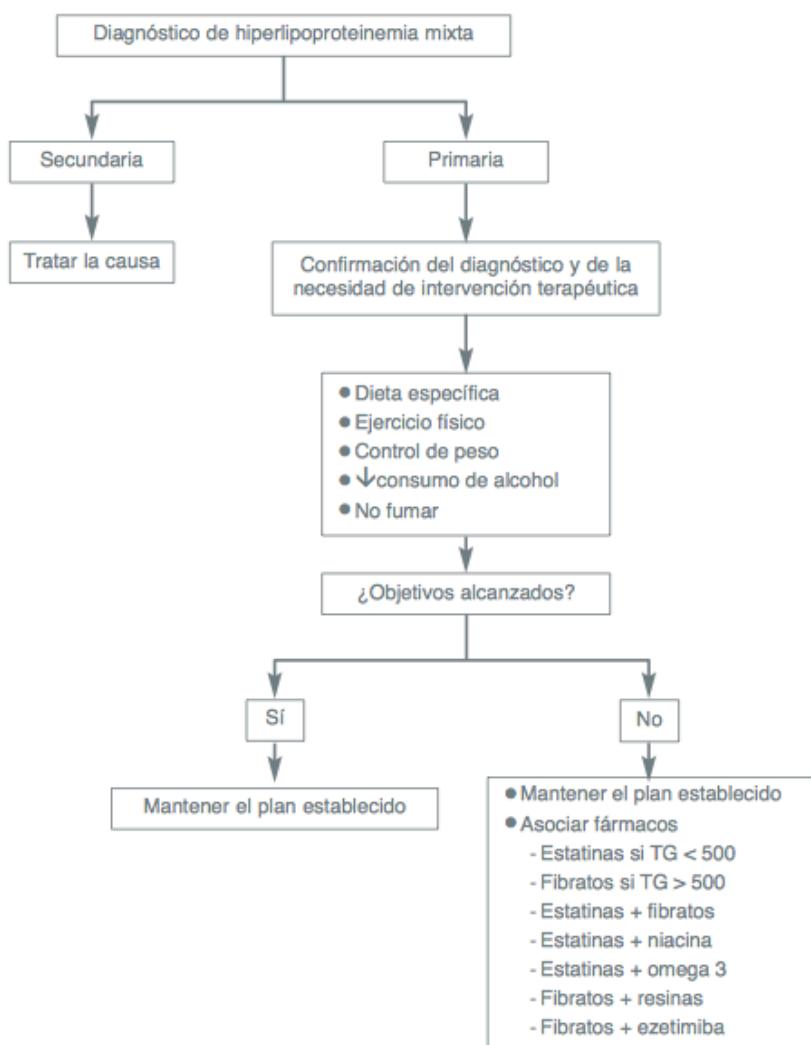
Se ha demostrado con claridad que el tratamiento más conveniente para la hipercolesterolemia pura son las estatinas y el más indicado para la hipertrigliceridemia son los fibratos. Sin embargo, el tratamiento más apropiado para las hiperlipemias mixtas no ha sido establecido con suficiente claridad.

La elección del fármaco a utilizar debe hacerse en base a:

- Los objetivos de cLDL a conseguir.
- El perfil lipídico específico.

El enfoque terapéutico de las hiperlipoproteinemias mixtas, por lo tanto, vendría a ser el que se refleja en la figura 7.

Figura 7. Esquema de la intervención en una hiperlipoproteinemia mixta.



En pacientes con hiperlipemia mixta, la combinación de fibratos y estatinas es muy eficaz para disminuir los triglicéridos y elevar la cifra de cHDL, en tanto que se mantiene, o se potencia, el efecto de las estatinas sobre el colesterol. Dicha combinación tiene un riesgo de efectos secundarios un poco mayor, especialmente en lo que concierne

a la afectación muscular, por lo que, a modo de prevención, podría considerarse la medición de la fibra de CK.

El conjunto de combinaciones posibles, además de la indicada (que es la de mayor eficacia), incluye las siguientes:

- Fibratos y ezetimiba (uso clínico aún no autorizado).
- Estatinas y ácido nicotínico.
- Fibratos y resinas.
- Estatinas y ácidos grasos omega 3.

1.5. Revisión del problema

La dislipemia es un factor de riesgo cardiovascular muy bien conocido, y diferentes guías clínicas han identificado específicamente el cLDL como objetivo cuando se quieren llevar a cabo intervenciones terapéuticas (5, 62, 63). Ello se deriva de diferentes ensayos clínicos que convierten el cLDL en el índice relacionado con enfermedad cardiovascular, más útil desde el punto de vista clínico.

Cabe mencionar, que las recomendaciones de tratamiento de colesterolemia para reducir el riesgo cardiovascular en adultos, publicadas en 2013 por el ACC/AHA (*American College of Cardiology/American Heart Association*) (64) han supuesto un importante cambio con respecto a las recomendaciones establecidas hasta ahora por ATPIII (*The Adult Treatment Panel III*) (5). En esta guía aparece un cambio significativo en el tratamiento del paciente dislipémico, ya que no se persiguen cifras objetivo de cLDL. En su lugar, se recomienda pautar tratamiento con estatinas, tal como sigue, siempre que el paciente se encuentre en uno de estos grupos de alto riesgo:

- Pacientes con enfermedad cardiovascular aterosclerótica establecida deben recibir tratamiento de alta intensidad con estatinas (si su edad es <75 años) o de intensidad moderada (si su edad es >75 años).

- Pacientes con cLDL \geq 190 mg/dL deben recibir un tratamiento de alta intensidad con estatinas.
- Los pacientes sin una enfermedad cardiovascular establecida, ni diabéticos, con niveles de cLDL entre 70-189 mg/dL y riesgo cardiovascular estimado a 10 años \geq 7,5% deben recibir tratamiento moderado o intensivo con estatinas.
- Los pacientes diabéticos con edad comprendida entre 40 y 75 años, con cLDL entre 70-189 mg/dL y sin enfermedad cardiovascular establecida, deben recibir tratamiento con estatinas de intensidad moderada (y, posiblemente de alta intensidad si el riesgo cardiovascular a 10 años es \geq 7,5%).

Se define el tratamiento de alta intensidad con estatinas como sigue: atorvastatina (40-80 mg) o rosuvastatina (20-40 mg). El de intensidad moderada incluye: atorvastatina (10-20 mg), rosuvastatina (5-10 mg), simvastatina (20-40 mg), pravastatina (40-80 mg) y otros. Salvo raras excepciones se desaconseja utilizar otros hipolipemiantes distintos a las estatinas e independientemente del tratamiento hipocolesterolemiantre que el paciente tenga pautado, se recomienda la modificación del estilo de vida en todos los casos.

El riesgo cardiovascular a 10 años (que incluye los episodios coronarios y los ACV) se determina mediante las calculadoras disponibles en las webs de la ACC y la AHA. El umbral de riesgo del 7,5% se seleccionó en base a los análisis que sugerían que el beneficio del tratamiento farmacológico se producía a partir del mismo.

El mayor cambio que supone la nueva guía es que ahora se incita a los clínicos a comenzar un tratamiento de alta o moderada intensidad en los pacientes incluidos en algunas de las cuatro categorías anteriormente mencionadas, sin tener que alcanzar unos objetivos específicos de cLDL. Por tanto, la determinación de los niveles de lípidos durante el tratamiento farmacológico tendrá como objetivo evaluar la adherencia al mismo, y no comprobar si se consiguen o no dichos objetivos.

El motivo para abandonar las cifras objetivo de cLDL es que los ensayos clínicos en los que las estatinas demuestran beneficios han evaluado generalmente dosis fijas de estatinas y no el ajuste a unos niveles pre-especificados de cLDL. Además, algunos fármacos que pueden mejorar el perfil lipídico no mejoran las variables de tipo clínico,

por lo que se piensa que las estatinas ejercen sus beneficios a través de sus efectos pleiotrópicos, además de por la disminución de cLDL.

Varias asociaciones han hecho público su descontento con la supresión del cLDL como objetivo terapéutico. Según la Sociedad Española de Aterosclerosis (SEA), este documento puede perjudicar a ciertos pacientes y además, poner el foco en las estatinas puede afectar a la investigación y desarrollo de otros fármacos hipolipemiantes (65). Es por ello que recomiendan el uso de las guías europeas. Por su parte la CCS (*Canadian Cardiovascular Society*) opina que un uso más amplio de las estatinas en el marco de una modificación del estilo de vida puede resultar beneficioso en cuanto a la disminución del número de eventos cardiovasculares, pero se necesita una evaluación prospectiva. Además, ensayos aleatorios en curso de nuevos agentes modificadores de lípidos pueden proveer pronto evidencias importantes acerca de la disminución de los niveles de cLDL que no podrían alcanzarse con el objetivo único del tratamiento con estatinas. Todo ello hace que aunque reconozcan las nuevas recomendaciones en la guía ACC/AHA para el tratamiento de la hipercolesterolemia, no encuentren en este momento una razón suficiente para alterar sus recomendaciones (66).

El perfil de lípidos de rutina incluye medidas de: colesterol total (CT), colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y triglicéridos (Tg). Hasta el momento, aunque existen varios ensayos para la medida directa de cLDL, éstos no están estandarizados, los resultados presentan una variabilidad significativa y por ello su uso no está muy extendido (67). De este modo, en la práctica clínica rutinaria el cLDL se calcula mediante la fórmula de Friedewald.

El cLDL es estimado mediante la fórmula de Friedewald en el seguimiento rutinario del paciente, siendo el foco principal de las guías clínicas en todo el mundo, incluyendo Europa (63), Estados Unidos (64) y Canadá (68) (69). La fórmula de Friedewald estima el cLDL de acuerdo a la ecuación 1.

Ecuación 1. Fórmula de Friedewald

$$\text{cLDL Friedewald} = \text{CT} - [\text{cHDL} + (\text{TG}/5)]$$

Esta ecuación se introdujo en la práctica clínica en 1972 debido al coste-efectividad asociado que presenta, comparado con la determinación de cLDL mediante ultracentrifugación, y a la optimización del tiempo de respuesta para este parámetro (70).

Por otra parte, esta fórmula, que utiliza para su cálculo los niveles de: colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos, incluye necesariamente errores acumulados de las tres medidas, se requieren muestras de sangre obtenidas en estado de ayuno y no puede usarse para triglicéridos superiores a 400 mg/dL (71).

Friedewald y colaboradores reconocían en su artículo original que una simple división del nivel de triglicéridos por cinco no era una estimación muy exacta del colesterol contenido en las lipoproteínas de muy baja densidad. La idea central en el desarrollo de la fórmula de Friedewald era que la mayor parte de los triglicéridos circulantes eran transportados en las VLDL, y que la relación entre el colesterol en esa fracción y los triglicéridos es constante (1:5 mg/dL). La inexactitud en la estimación de cVLDL podía tolerarse, puesto que la concentración de cVLDL era pequeña en relación a las concentraciones de cLDL (70). No obstante, esta cuestión debería reevaluarse en la actualidad, donde los tratamientos hipolipemiantes intentan conseguir concentraciones de cLDL cada vez menores y donde las hipertrigliceridemias son un problema creciente, asociado a las epidemias de obesidad, resistencia a la insulina y diabetes mellitus (72).

Aunque diversos estudios sugieren que el cálculo de cLDL mediante la fórmula de Friedewald infraestima los niveles de cLDL, sobre todo para concentraciones bajas de cLDL (73, 74) y para concentraciones de triglicéridos altas (75, 76), la ecuación sigue utilizándose en la práctica clínica diaria, sin tener demasiado en cuenta sus limitaciones.

Las guías de NCEP-ATP III (*The National Cholesterol Education Program*) para población general y las de ADA (*American Diabetes Association*) para sujetos diabéticos (5, 62) recomiendan que cuando los niveles de triglicéridos plasmáticos sean superiores a 200 mg/dL, el segundo objetivo de la terapia hipolipemiantes sea el colesterol no HDL (c no-HDL). El colesterol no HDL refleja la concentración de colesterol transportado por las lipoproteínas aterogénicas que contienen apolipoproteína B.

Otra forma de medir las lipoproteínas aterogénicas es cuantificando los niveles plasmáticos de apo B100. Esta determinación es simple, está estandarizada y no requiere que el individuo esté en ayunas. Las medidas de apo B100 representan el total de proteínas consideradas como más aterogénicas (77), ya que cada molécula de VLDL, IDL o LDL transporta una única molécula de apo B100 (78). Existen estudios que indican que el estudio del riesgo cardiovascular puede mejorarse midiendo apo B100, independientemente de los niveles de triglicéridos (79-81).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

Entre los individuos con hiperlipemia mixta existe un subgrupo que desarrolla enfermedad coronaria prematura y se desconocen las causas de esta variabilidad interindividual. Este subgrupo de pacientes presenta una distribución de lipoproteínas con propiedades más aterogénicas que el resto, y el estudio de su perfil lipoproteico nos ayudaría a entender el desarrollo de esta patología.

En el caso de la hiperlipemia mixta, donde los triglicéridos plasmáticos están elevados, los objetivos lipídicos basados únicamente en el cLDL pueden clasificar erróneamente un amplio número de sujetos. Una aproximación más útil supondría el uso de medidas de las partículas aterógenas. Un planteamiento es incorporar en la evaluación del riesgo cardiovascular la medida de apo B100, como proponen las guías canadienses. La determinación del colesterol no HDL también proporciona información adicional en la estimación del riesgo cardiovascular.

Por tanto, la contextualización dentro de la Dislipemia Mixta de los objetivos terapéuticos establecidos de forma general en las guías clínicas nos permitirá clarificar el abordaje de estos pacientes, tanto desde el punto de vista diagnóstico como terapéutico. La búsqueda de equivalencias entre las magnitudes de cLDL (Friedewald y determinado por ultracentrifugación), c-noHDL y apo B100 supondría una mejora en el manejo de las Dislipemias Mixtas, complementándose unas a otras para describir de una forma mejor la situación metabólica del paciente en cada momento.

2.2. Objetivos

El abordaje de la Dislipemia Mixta desde el punto de vista lipoproteico se estructuró en base a varios objetivos:

1. Identificar la existencia de un patrón lipoproteico característico de individuos con hiperlipemias mixtas
2. Valorar el uso, en la Dislipemia Mixta, de distintas fórmulas para el cálculo del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad.
3. Buscar equivalencias entre LDL-colesterol, colesterol no HDL y apo B100 en la Dislipemia Mixta.
4. Estimar los remanentes de colesterol y evaluar su uso como marcadores de riesgo cardiovascular.

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio

El trabajo es un estudio observacional de carácter transversal que trató de obtener información acerca de las características de una población determinada, pacientes con Dislipemia Mixta. En estos pacientes se evaluaron las particularidades de las diferentes fracciones lipoproteicas obtenidas mediante ultracentrifugación del plasma.

Este proyecto de investigación fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) antes de su realización.

3.2. Población de estudio

La población de estudio comprende pacientes pertenecientes a la seroteca de la Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza y de la Unidad de Lípidos del Hospital San Jorge de Huesca. Se trata de sujetos que han prestado su consentimiento informado para participar en diferentes estudios de investigación de las citadas unidades.

Nuestro estudio se centró en pacientes con Dislipemia Mixta, clasificados como tal de acuerdo a los siguientes criterios:

3.2.1. Criterios de inclusión

- Pacientes con niveles de colesterol y triglicéridos en plasma por encima del percentil 90 de la población española de acuerdo con el estudio DRECE (82), en al menos dos ocasiones. La repetición de las determinaciones lipídicas garantiza que la inclusión de individuos no se haya debido a elevaciones transitorias de colesterol y

triglicéridos, ya sean causadas por variaciones biológicas o por las variaciones analíticas inherentes al método de medida.

Según ese estudio, en la población española encontramos la siguiente caracterización lipídica, en base a edad y sexo:

Tabla 7. Percentil 90 del perfil lipídico de la población española según el estudio DRECE (82)

p90	CT (mg/dL)	TG (mg/dL)	cLDL(mg/dL)*	cHDL (mg/dL)
Mujeres (edad en años)				
5-12	209	109	129	76
13-19	204	106	116	72
20-29	226	131	160	77
30-39	234	139	182	75
40-49	259	161	183	80
50-59	284	199	188	80
Hombres (edad en años)				
5-12	209	100	133	79
13-19	185	121	127	64
20-29	237	201	146	64
30-39	264	290	154	64
40-49	268	279	176	65
50-59	274	263	200	70
TOTAL	250	178	170	73

*cLDL estimado mediante la fórmula de Friedewald

Puesto que nuestra muestra puede considerarse un subgrupo de la población analizada en el estudio DRECE, hemos utilizado como puntos de corte niveles de colesterol plasmático superiores a **250 mg/dL** y triglicéridos en plasma mayores de **178 mg/dL**.

- Edad comprendida entre los 18 y 65 años.

3.2.2. Criterios de exclusión

- Pacientes con tratamiento hipolipemiante en las 4 últimas semanas antes de la obtención de la muestra.
- Individuos con Diabetes Mellitus tipo 1 o Diabetes Mellitus tipo 2 con mal control metabólico ($HbA1c > 8,5\%$).

- Sujetos con enfermedad hepática, referenciada por un aumento de 1,5 veces los valores plasmáticos normales de alanina aminotransferasa (ALT > 60 UI/L) o de gamma-glutamil transferasa (GGT > 97,5 UI/L).
- Personas con enfermedad renal, determinada por aumento de la creatinina en plasma de 1,5 veces su valor normal (Crea > 1,8 mg/dL) o por pérdida de proteínas en orina.
- Presencia de enfermedad tiroidea clínica o subclínica (TSH fuera de los rangos de referencia).
- Pacientes con cáncer de cualquier tipo.
- Sujetos a los que se les administran fármacos que provocan un aumento de los niveles plasmáticos de triglicéridos (corticoides, anabolizantes, inhibidores de la proteasa, ciclosporina, ácido retinoico..)

3.2.3. Definición de la muestra

Las muestras utilizadas son plasma obtenido por punción tras un ayuno de al menos 12 horas antes de la extracción para asegurar que los triglicéridos analizados no estén afectados por la dieta. Puesto que la ingesta de alimentos afecta de manera importante las concentraciones de lípidos plasmáticos, un ayuno de 12-14 horas es indispensable para la medida de lípidos y lipoproteínas (83).

Para el estudio del perfil lipídico se han realizado dos determinaciones en ayunas de 12-14 horas separadas por un intervalo de 1-3 semanas, como recomienda el consenso español para el control de la colesterolemia.

Bajo los criterios de inclusión y exclusión establecidos, nuestra población consta de un total de 235 individuos, con una distribución por sexo de: 63% de hombres y 37% de mujeres (figura 8), y una mediana de edad de la población global de 49 años (tabla 8).

Figura 8. Distribución por sexo de la población de estudio.

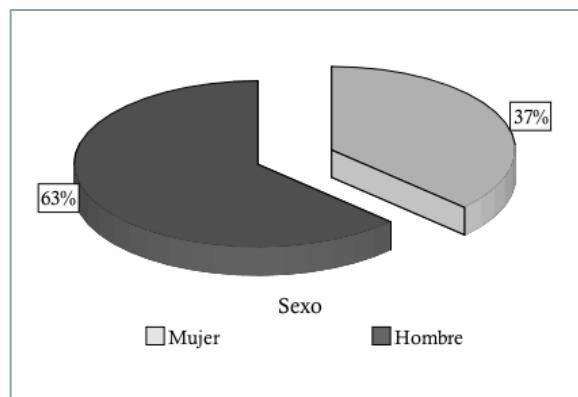


Tabla 8. Descriptivos de las variables sexo y edad para la población de pacientes con Dislipemia Mixta.

Edad (años)	p25	p50	p75	Rango
Mujeres	37%	48	55	22-65
Hombres	63%	37	46	19-65
TOTAL	100%	40	49	19-65

En cuanto a la descripción lipídica de los individuos que cumplen criterios de inclusión hemos encontrado:

Tabla 9. Descriptivos de los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en la población de estudio.

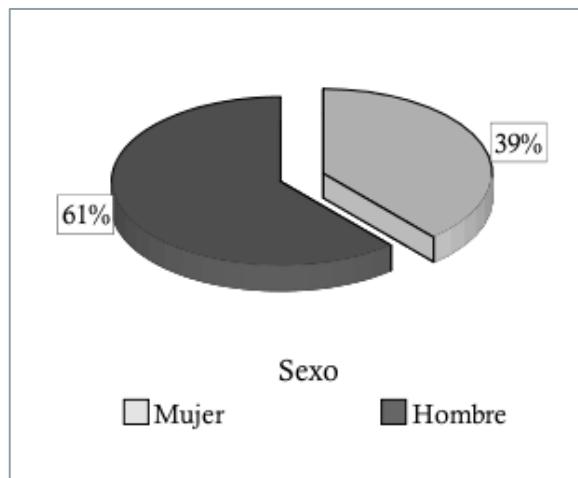
	p25	p50	p75	Rango
Colesterol total (mg/dL)	279	307	338	251-494
Triglicéridos (mg/dL)	224	289	441	178-1949

Como control se ha utilizado una muestra de 45 individuos procedentes de la Unidad de Lípidos del Hospital San Jorge de Huesca y con niveles plasmáticos normales de colesterol total y triglicéridos totales, de acuerdo con los valores establecidos por el estudio DRECE. El 61% eran hombres y el 39% eran mujeres (figura 9), con edades comprendidas entre los 21 y 75 años, y una mediana de edad de 43 años (tabla 10).

Tabla 10. Descriptivos de las variables sexo y edad para la población de control.

Edad (años)	p25	p50	p75	Rango
Mujeres	39%	30	43	52
Hombres	61%	28	42	53
TOTAL	100%	29	43	52

Figura 9. Distribución por sexo de la población control.



El grupo control utilizado no presenta diferencias estadísticamente significativas con nuestra población de estudio en cuanto a edad y sexo, por lo tanto lo utilizamos como referencia en nuestro análisis. No ocurre lo mismo con los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos, para los que si existen diferencias significativas con nuestra población de estudio, como era de esperar. En la tabla 11 se recogen los percentiles 25, 50 y 75 de colesterol y triglicéridos de la población control.

Tabla 11. Descriptivos de los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en la población de control.

	p25	p50	p75	Rango
Colesterol total (mg/dL)	162	180	197	150-200
Triglicéridos (mg/dL)	66	79	114	45-150

3.2.4. Variables de estudio

Las variables que se utilizaron para la realización de la Tesis Doctoral pueden dividirse en cuatro grupos fundamentalmente:

- Variables cuantitativas que corresponden a determinaciones en el plasma total:
Colesterol total (CT), Triglicéridos totales (TG), Colesterol HDL (obtenido por determinación directa) (cHDLd), apo A1, apo B100.
- Datos obtenidos de determinaciones realizadas en las fracciones lipoproteicas separadas por ultracentrifugación:

Tabla 12. Parámetros medidos en las fracciones lipoproteicas separadas por ultracentrifugación.

Fracción	Parámetro analizado
VLDL	Colesterol, Triglicéridos
LDL+HDL	Colesterol, Triglicéridos, Apo B100
HDL	Colesterol, Triglicéridos

- Resultados de cálculos matemáticos:

Colesterol LDL calculado mediante la fórmula de Friedewald (cLDL Friedewald), Colesterol no-HDL (c-noHDL), Colesterol obtenido mediante la fórmula de Cordova (cLDL Cordova) y Colesterol LDL obtenido por ultracentrifugación (cLDL_{uc}).

Tabla 13. Cálculos a partir de medidas directas en plasma total y fracciones separadas por ultracentrifugación.

Parámetro	Cálculo realizado
cLDL Friedewald	cLDL Friedewald = CT - [cHDL + (TG/5)]
Colesterol no-HDL	c-noHDL = CT - cHDL
cLDL Cordova	cLDL Cordova = 0,75 * (c-noHDL)
cLDL ultracentrifugación	cLDL _{uc} = CT - cVLDL - cHDL

- Variables cualitativas y cuantitativas establecidas como: criterios de inclusión/exclusión, y como factores de riesgo cardiovascular (tabla 14).

Tabla 14. Criterios de inclusión/exclusión y factores de riesgo cardiovascular registrados en nuestra población.

Criterios inclusión/exclusión	Alanina aminotransferasa (ALT) Gamma-glutamil transferasa (GGT) Creatinina (Crea) Hemoglobina glicosilada (HbA1c) Tirotropina (TSH)
Factores de riesgo cardiovascular	Edad Tabaco Presión arterial sistólica/diastólica (PAS/PAD) Índice de masa corporal (IMC) Genotipo de apoE Presencia de arco corneal

3.3. Metodología

Las muestras utilizadas en nuestro estudio han sido muestras de plasma congelado de pacientes diagnosticados de Dislipemia Mixta. Éstas habían sido obtenidas antes de iniciar el tratamiento hipolipemiante, y en aquellos pacientes que ya estaban sometidos a tratamiento, después de la suspensión de la medicación durante al menos cuatro semanas.

En el momento de su extracción se hicieron determinaciones de: colesterol total, triglicéridos, colesterol unido a HDL (determinado por método directo), apo B100, ALT, GGT, TSH y creatinina, para su correcta clasificación fenotípica y para comprobar que no cumplían criterios de exclusión.

3.3.1. Análisis bioquímicos

Las muestras a analizar se dejaban descongelar durante toda la noche en nevera a 4°C.

En el plasma total se determinó colesterol total, triglicéridos (basados en los método enzimáticos: CHOD-PAP y GPO-PAP, respectivamente)(84, 85) y colesterol unido a HDL (determinado por método directo), en un equipo AU5400 de Beckman Coulter, Inc.. El ensayo de la determinación directa de colesterol HDL se basa en la precipitación de las partículas unidas a apo B100 (86), y consta de dos fases:

- a. El colesterol contenido a todas las lipoproteínas distintas de las de alta densidad (HDL) se solubiliza y es consumido por la colesterol oxidasa, peroxidasa y *N,N*-bis(4-sulfobutil)-*m*-toluidina disódico (DSBmT), para generar un producto incoloro.
- b. En la segunda fase, un detergente selectivo solubiliza las lipoproteínas HDL. El colesterol unido a las lipoproteínas HDL se libera para reaccionar con la colesterol estearasa, la colesterol oxidasa, y un sistema cromógeno que produce un complejo de color azul, que puede ser medido colorimétricamente.

La cuantificación plasmática de: apolipoproteína A1 y apolipoproteína B100 se realizó en un equipo IMMA[®]GE800 de Beckman Coulter, Inc. (mediante inmunoensayo con detección nefelométrica) (87).

3.3.2. Ultracentrifugación

La separación de las fracciones lipoproteicas se llevó a cabo mediante ultracentrifugación utilizando el método de rutina recomendado por el *Cholesterol Reference Method Laboratory Network* (CRMLN). Se usó una ultracentrífuga TL-100 ÓptimaTM (Beckman Coulter). Se trata de una centrífuga con un rotor de ángulo fijo de 30°, con capacidad para 6 tubos, que alcanza las 100.000 rpm, y que permite una refrigeración de hasta 2°C.

El método de rutina que hemos utilizado para la separación de las lipoproteínas consta de dos etapas, mediante las que conseguimos separar tres fases: VLDL, HDL+LDL y HDL.

1. Separación de VLDL

La muestra de plasma se mezcló con suero fisiológico (SF) BRAUN. Se trata de una solución de cloruro sódico al 0,9%, que tiene una densidad de 1,006 g/mL. La mezcla se hizo en proporción 1:1. Si había suficiente muestra mezclábamos 1mL de plasma con 1mL de suero fisiológico, y si el volumen de muestra no era suficiente se adaptaban los volúmenes a la cantidad de muestra existente, manteniendo la misma proporción muestra:suero fisiológico.

Esta mezcla se sometía a una centrifugación a 100.000 rpm, durante 2 horas y 30 minutos, y a 16 °C.

Una vez completada la centrifugación se retiró, cuidadosamente y asegurándonos que nos llevábamos toda la capa lipídica, 1mL de la capa superior. Esta fase tiene una densidad de 1,006 g/mL y contiene **VLDL**. En esta fracción se cuantifica colesterol total y triglicéridos. Estas determinaciones nos permitieron conocer el contenido de colesterol y triglicéridos en la lipoproteínas VLDL de nuestros pacientes (cVLDL y TgVLDL, respectivamente).

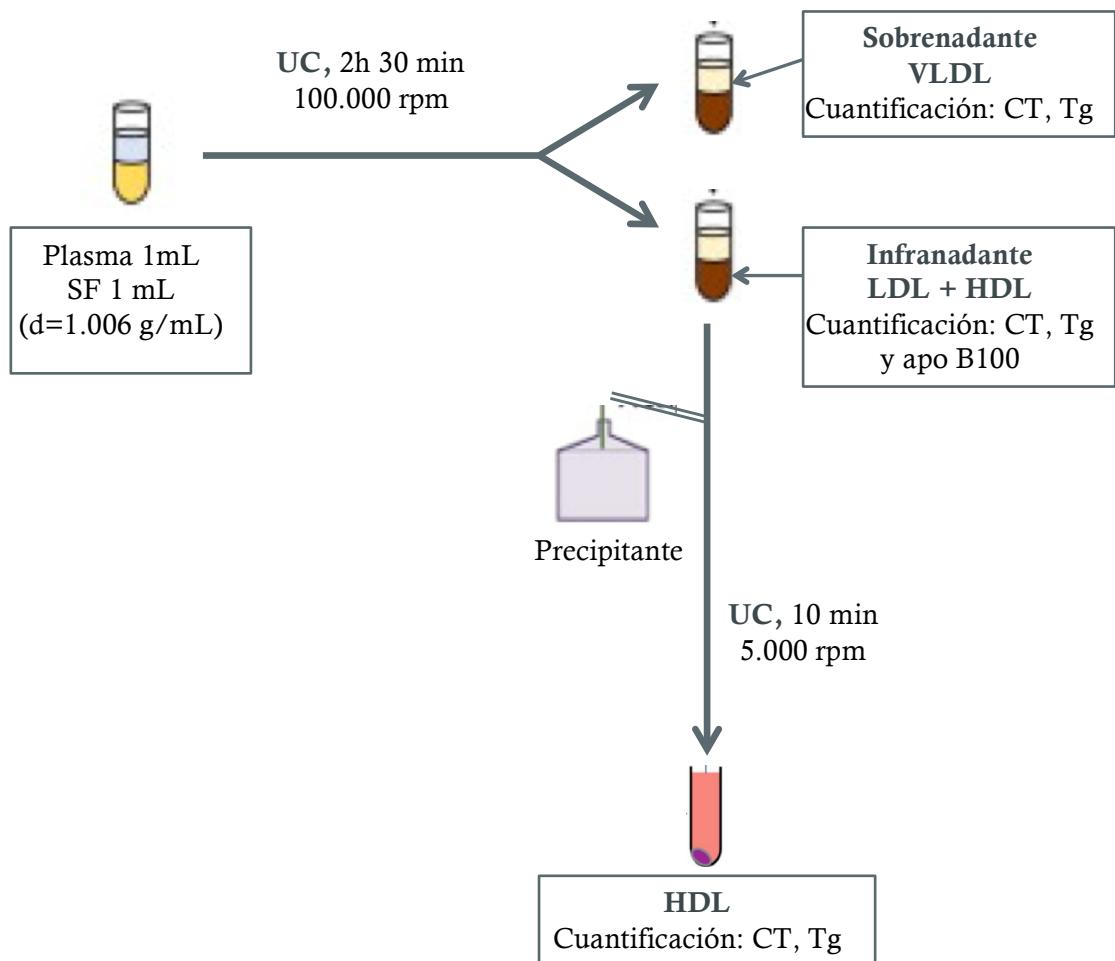
En el infranadante permanecen **LDL** y **HDL**. A esta fracción se le dio el nombre de **L+H**. En esta fase determinamos colesterol, triglicéridos y apo B100.

2. Separación de HDL

Del infranadante obtenido en la etapa anterior se tomaron 300 μ L y se mezclaron en proporción 1:3 con un precipitante que contiene fosfotungstato y cloruro de magnesio (reactivo precipitante para la determinación de cHDL de la casa comercial Biosystems). Conseguimos de esta forma precipitar las lipoproteínas de baja densidad presentes en la muestra. La mezcla se agita en vortex y después se centrifuga durante 10 minutos a 5000 rpm. Observamos que en fondo del tubo tenemos el precipitado con las partículas de LDL, y del sobrenadante separamos las **HDL**. En esta fracción cuantificamos colesterol y triglicéridos. Conseguimos así la caracterización lipídica de las partículas de HDL.

La metodología de la técnica de ultracentrifugación se representa en la figura 10.

Figura 10. Esquema de ultracentrifugación mediante método rápido.



3.4. Análisis estadístico

Los datos se han analizado con el paquete informático IBM® SPSS Statistics 20 (SPSS inc; Chicago, EEUU).

La normalidad de las variables se evaluó utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) con la corrección de Lilliefors.

En los análisis descriptivos, las variables continuas se indicaron como media (desviación estándar) para distribuciones normales y como mediana [rango intercuartílico] en el caso de distribuciones no normales. Las variables categóricas se mostraron como porcentajes.

La comparación de medianas se ha realizado con la prueba de Mann-Whitney para muestras independientes.

El estudio de la asociación entre variables cuantitativas no paramétricas se hizo mediante correlaciones de Spearman para rangos. Y para analizar la asociación entre dos o más variables cualitativas se usaron tablas de contingencia.

En los estudios de concordancia se ha utilizado el estadístico Índice Kappa, que mide la fuerza de la concordancia a estudio. La valoración de este índice se recoge en la tabla 15.

Tabla 15. Valoración del Índice Kappa

Valor de <i>k</i>	Fuerza de concordancia
< 0,20	Pobre
0,21 - 0,40	Débil
0,41 - 0,60	Moderada
0,60 - 0,80	Buena
0,81 - 1,00	Muy buena

Se ha utilizado la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon para comparar datos no paramétricos con una mediana teórica.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales y estadísticamente significativas para un valor de *p* inferior a 0,05.

Terminología utilizada

Med	Mediana
RIC	Rango intercuartílico
p25	Percentil 25
p50	Percentil 50
p75	Percentil 75
p	Significación para un grado de confianza del 95%

RESULTADOS

Numerosos estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que concentraciones elevadas de colesterol en las LDL plasmáticas (cLDL) se asocian a un incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular (RCV). Es por ello que se ha utilizado esta magnitud como objetivo en el diagnóstico y manejo de las hiperlipidemias, entre ellas de las Dislipemias Mixtas, y para la evaluación del RCV.

En nuestro análisis hemos evaluado el comportamiento de esta magnitud como marcador de riesgo cardiovascular y hemos tratado de buscar alternativas que nos permitan explicar eventos cardiovaseulares no esperables según el perfil lipoproteico del paciente.

4.1. Identificación de un patrón lipoproteico asociado a Dislipemias Mixtas

En primer lugar hemos tratado de conocer el punto de partida de nuestra población. Para ello, hemos estudiado el patrón lipídico y proteico de los pacientes con Dislipemia Mixta que formaban parte del estudio, así como de la población de control.

Los niveles de lípidos y lipoproteínas que hemos encontrado en los individuos estudiados se recogen en la tabla 16.

Observamos que hay diferencias estadísticamente significativas entre la muestra control y los individuos con Dislipemia Mixta en todos los parámetros excepto en los niveles plasmáticos de apo A1, para los que la distribución es muy similar.

Tabla 16. Patrón lipídico de pacientes con Dislipemia Mixta y controles.

		p25	p50	p75	RIC	p
Pacientes con Dislipemia Mixta						
CT (mg/dL)	M	283	306	336	253-475	
	H	278	307	339	251-494	
	Tot	279	307	338	251-494	0,000 ζ
Tg (mg/dL)	M	227	282	385	179-1431	
	H	222	292	474	178-1949	
	Tot	224	289	441	178-1949	0,000 ζ
cHDLd (mg/dL)	M	43	48	56	25-87	
*	H	35	41	49	23-85	
	Tot	37	45	52	23-87	0,000 ζ
apo A1 (mg/dL)	M	136	152	187	114-288	
*	H	125	135	159	81-294	
	Tot	127	144	166	81-294	0,912
apo B100 (mg/dL)	M	153	168	188	98-309	
	H	152	170	192	109-384	
	Tot	153	169	192	98-384	0,000 ζ
Pacientes control						
CT (mg/dL)	M	159	175	194	150-200	
	H	167	183	199	150-200	
	Tot	162	180	197	150-200	
Tg (mg/dL)	M	61	76	100	45-136	
	H	67	87	128	56-150	
	Tot	66	79	114	45-150	
cHDLd (mg/dL)	M	49	54	60	44-76	
*	H	40	48	62	30-73	
	Tot	44	50	61	30-76	
apo A1 (mg/dL)	M	139	151	175	120-215	
	H	129	136	150	99-215	
	Tot	130	142	162	99-215	
apo B100 (mg/dL)	M	75	90	99	60-110	
	H	84	94	110	61-122	
	Tot	80	93	106	60-122	

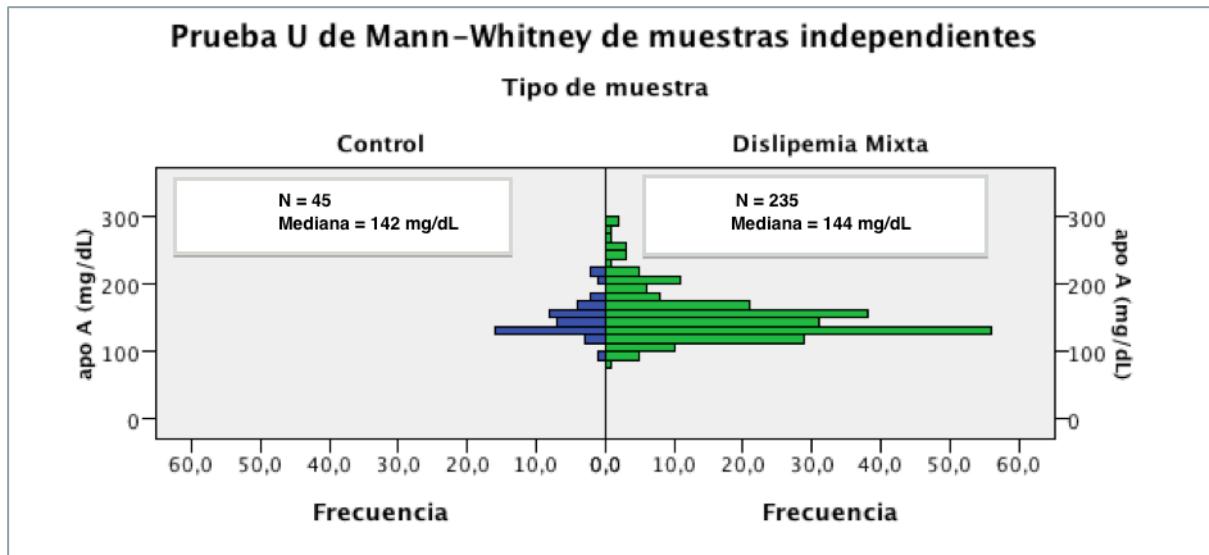
cHDLd: colesterol unido a HDL que ha sido determinado por medida directa en plasma. **p25, p50, p75:** percentiles 25, 50 y 75 respectivamente. **RIC:** rango intercuartílico. **p:** significación para un grado de confianza del 95%.

*: existen diferencias estadísticamente significativas entre los sexos para un mismo grupo.

ζ : existen diferencias estadísticamente significativas entre la población control y los pacientes con Dislipemia Mixta.

En la figura 11 hemos comparado las distribuciones de apo A1 entre la muestra control y la muestra con Dislipemia Mixta.

Figura 11. Comparación mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para muestras independientes de las distribuciones de apo A1 en la categoría de control y de Dislipemia Mixta.



En cuanto a los niveles de lípidos y lipoproteínas en las distintas fracciones aisladas durante la ultracentrifugación, los resultados obtenidos se recogen en la tabla 17.

Hemos comprobado que únicamente en el caso de cHDL existen diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, en la muestra de individuos con Dislipemia Mixta. Al comparar el grupo control con el grupo de interés hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en todos los parámetros estudiados. Se observa un incremento en todas las magnitudes lipídicas y proteicas de los individuos con Dislipemia Mixta, excepto en cHDL, donde vimos una disminución.

Tabla 17. Niveles de lipídicos y lipoproteicos en las fracciones VLDL, (H+L) y HDL.

		p25	p50	p75	RIC	p
Pacientes con Dislipemia Mixta						
cVLDL (mg/dL)	M	27	39	53	10-154	
	H	33	44	59	12-204	
	Tot	31	42	58	10-204	0,000 ζ
TgVLDL (mg/dL)	M	76	97	141	0-929	
	H	81	109	178	18-883	
	Tot	79	107	169	0-929	0,000 ζ
c(L+H) (mg/dL)	M	208	242	269	106-409	
	H	184	227	269	87-433	
	Tot	196	236	269	87-433	0,000 ζ
Tg(H+L) (mg/dL)	M	96	118	155	61-365	
	H	97	115	147	48-342	
	Tot	96	117	150	48-365	0,000 ζ
apo B100-(H+L) (mg/dL)	M	128	147	167	65-281	
	H	123	148	172	51-299	
	Tot	126	148	170	51-299	0,000 ζ
cHDLuc (mg/dL)	M	36	42	51	24-90	
	*	H	30	36	42	12-74
		Tot	30	39	45	12-90
TgHDL (mg/dL)	M	17	18	24	12-72	
	H	15	18	24	9-53	
	Tot	15	18	24	9-72	0,000 ζ
Pacientes control						
cVLDL (mg/dL)	M	3	5	9	2-22	
	H	5	9	16	3-36	
	Tot	5	7	14	2-36	
TgVLDL (mg/dL)	M	17	27	48	13-67	
	H	26	37	64	16-86	
	Tot	24	33	54	13-86	
c(H+L) (mg/dL)	M	147	162	198	134-202	
	H	150	172	189	131-209	
	Tot	149	168	190	131-209	
Tg(H+L) (mg/dL)	M	42	45	52	26-67	
	H	42	48	59	31-105	
	Tot	42	47	58	26-105	
apo B100-(H+L) (mg/dL)	M	70	88	98	54-102	
	H	79	92	104	59-141	
	Tot	76	89	100	54-141	

		p25	p50	p75	RIC	p
cHDLuc (mg/dL)	M	46	51	71	42-78	
	H	39	46	62	28-72	
	Tot	42	48	63	28-78	
TgHDL (mg/dL)	M	12	15	18	9-21	
	H	12	15	18	9-27	
	Tot	12	15	18	9-27	

(H+L): fracción aislada por ultracentrifugación y que contiene HDL y LDL. **cHDLuc:** colesterol unido a HDL y que ha sido determinado en la fracción HDL aislada por ultracentrifugación. **p25, p50, p75:** percentiles 25, 50 y 75 respectivamente. **RIC:** rango intercuartílico. **p:** significación para un grado de confianza del 95%.

*: existen diferencias estadísticamente significativas entre los sexos para un mismo grupo.

ζ: existen diferencias estadísticamente significativas entre la población control y los pacientes con dislipemia mixta.

Al confrontar los niveles de cHDL obtenidos por cuantificación directa del plasma y los obtenidos en la fracción de HDL aislada por ultracentrifugación hemos advertido que existe una buena correlación entre ambos, en los dos grupos de población. En la figura 12 se aprecia la correlación entre dichas medidas y la tabla 18 recoge los coeficientes de correlación de Spearman.

Figura 12. Correlación entre el cHDL medido directamente en plasma y el medido en la fracción de HDL aislada por ultracentrifugación.

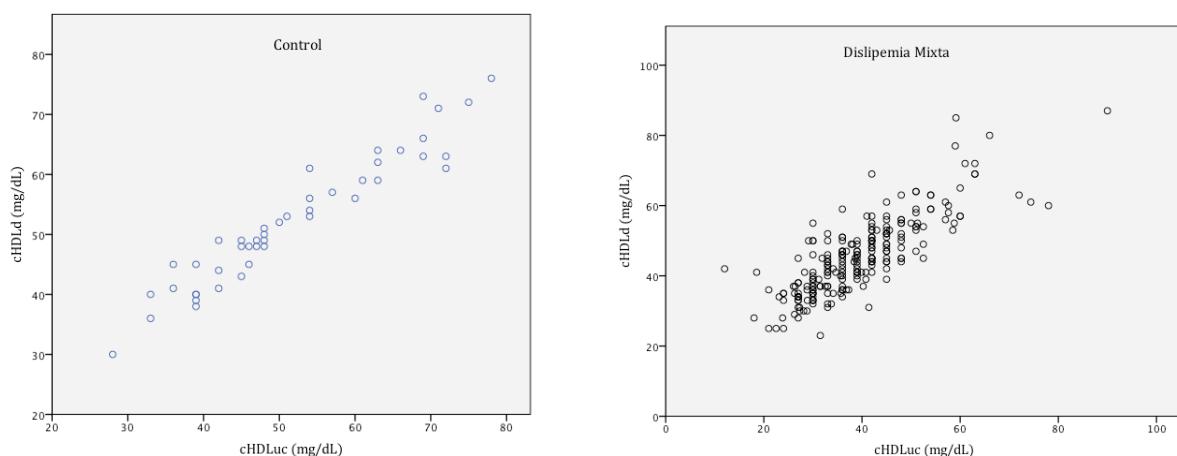


Tabla 18. Coeficientes de correlación entre cHDL directo y el obtenido tras ultracentrifugación

	Correlación cHDLd vs cHDLuc	
	Control	Dislipemia Mixta
Rho de Spearman	0,961*	0,813*
* La correlación es significativa a nivel 0,01 (bilateral)		

Se trata por tanto de medidas comparables, como era de esperar. Usaremos como dato para el resto de análisis realizados con cHDL el correspondiente a cHDLuc (a partir de ahora cHDL).

Una vez investigadas las variables medidas directamente, hemos examinado el comportamiento de las magnitudes calculadas a partir de fórmulas matemáticas (Friedewald y Cordova) y su conducta con respecto a aquellas determinadas por medida directa en las fracciones obtenidas en la ultracentrifugación (cLDL_{uc} y c-noHDL).

Para ello, hemos comparado las concentraciones de colesterol LDL estimado mediante distintas fórmulas y de colesterol no HDL (tabla 19):

- Ultracentrifugación \Rightarrow cLDL_{uc} = CT – cVLDL – cHDL
- Colesterol no HDL \Rightarrow c-noHDL = CT – cHDL
- Fórmula Friedewald \Rightarrow cLDL_f = CT – [cHDL + (TG/5)]
- Fórmula Cordova \Rightarrow cLDL_{cor} = 0,75 * c-noHDL

Tabla 19. Colesterol unido a LDL obtenido por diferentes métodos.

		p25	p50	p75	RIC	p
Pacientes con Dislipemia Mixta						
cLDL_{Luc} (mg/dL)	M	196	217	245	133-382	
	H	199	225	252	134-407	
	Tot	198	221	250	133-407	0,000 ζ
c-noHDL (mg/dL)	M	239	260	291	197-446	
	H	246	270	299	210-464	
	Tot	243	268	295	197-464	0,000 ζ
cLDL_f (mg/dL)	M	187	207	238	125-320	
	H	191	213	240	147-409	
	Tot	189	212	239	125-409	0,000 ζ
cLDL_{cor} (mg/dL)	M	179	195	218	148-334	
	H	184	203	224	158-348	
	Tot	182	201	221	148-348	0,000 ζ
Pacientes control						
cLDL_{Luc} (mg/dL)	M	94	110	125	85-134	
*	H	111	121	133	81-149	
	Tot	104	118	131	81-149	
cLDL_f (mg/dL)	M	87	100	115	79-131	
*	H	103	114	128	71-139	
	Tot	97	109	124	71-139	
cLDL_{cor} (mg/dL)	M	78	87	98	66-110	
*	H	88	101	110	63-123	
	Tot	86	95	108	63-123	
c-noHDL (mg/dL)	M	104	116	130	88-146	
*	H	117	134	146	84-164	
	Tot	114	127	144	84-164	

p25, p50, p75: percentiles 25, 50 y 75 respectivamente. **RIC:** rango intercuartílico. **p:** significación para un grado de confianza del 95%.

*: existen diferencias estadísticamente significativas entre los sexos para un mismo grupo (Control/Dislipemia Mixta).

ζ : existen diferencias estadísticamente significativas entre la población control y los pacientes con Dislipemia Mixta.

En los pacientes con Dislipemia Mixta estratificados por sexo no se registraron diferencias estadísticamente significativas para las distintas determinaciones del colesterol LDL cuando se comparó por sexo. No ocurrió lo mismo en la muestra control,

donde hemos observado desigualdades estadísticamente significativas para todas las variables estudiadas al subdividirlas por sexo.

Cuando hemos confrontado los parámetros estudiados en las dos poblaciones hemos subrayado que no son comparables, observándose concentraciones de cLDL (independientemente del método utilizado para su cálculo/medición) superiores en los pacientes con Dislipemia Mixta, con incrementos de entre el 87 y el 112% (tabla 20).

Tabla 20. Incremento en los niveles de cLDL y c-noHDL en la población de individuos con Dislipemia Mixta respecto a la población control

Incremento Dislipemia Mixta vs Control (%)	
cLDL ultracentrífuga	87
cLDL Friedewald	94
cLDL Cordova	112
c-noHDL	111

En la tabla 19 también podemos comparar los resultados obtenidos para los distintos cálculos de cLDL con el medido mediante ultracentrifugación. Hemos advertido que los cálculos de Friedewald y de Cordova infraestiman el cLDL plasmático, proporcionando resultados significativamente inferiores.

4.2. Evaluación del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad obtenido por distintos métodos

Los resultados de cLDL para la muestra de estudio (Dislipemia Mixta) que obtuvimos mediante dos fórmulas: Friedewald, siempre que la concentración de triglicéridos fuera inferior a 400 mg/dL, y Cordova, se han valorado utilizando una nueva variable: la Diferencia Absoluta de cLDL. Esta diferencia se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Diferencia absoluta cLDL} = \text{cLDL (calculado)} - \text{cLDL (medido por uc)}$$

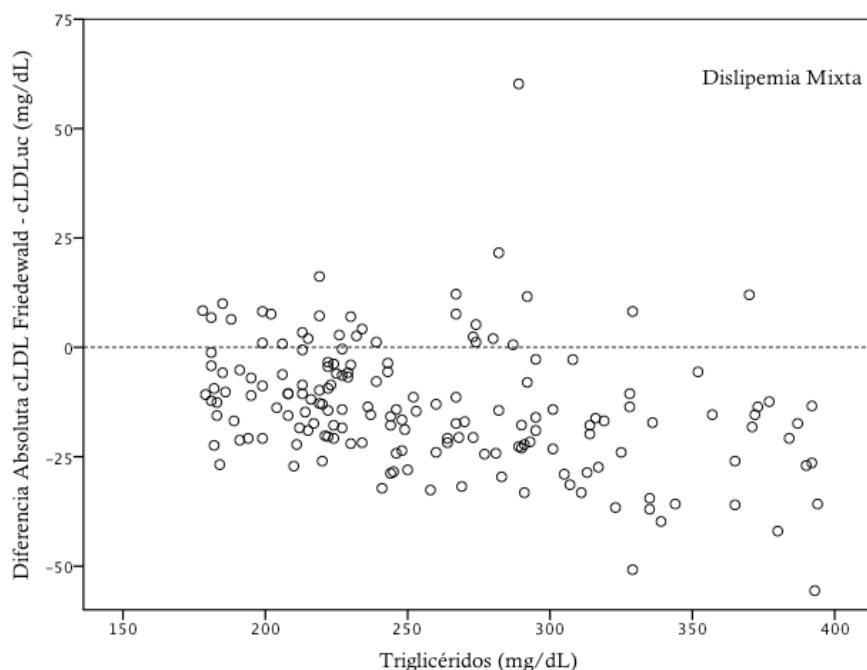
4.2.1. Fórmula de Friedewald

■ Valoración de la fórmula de Friedewald

El examen de los datos de cLDL en nuestra muestra de estudio se ha resumido en la figura 13, donde se ha representado la diferencia absoluta cLDL para la fórmula de Friedewald frente a los triglicéridos plasmáticos.

Se pudo apreciar que el uso esta ecuación conduce a una infraestimación de los niveles reales de cLDL, cualquiera que sea la concentración plasmática de triglicéridos. Es necesario tener en cuenta que el estudio se limitaba a un intervalo comprendido entre 150 mg/dL (debido a las características de nuestra población de estudio, para la que uno de los criterios de inclusión era que los niveles de triglicéridos tenían que ser mayores de 150 mg/dL) y 400 mg/dL, límite marcado por el rango de aplicación de la ecuación de Friedewald.

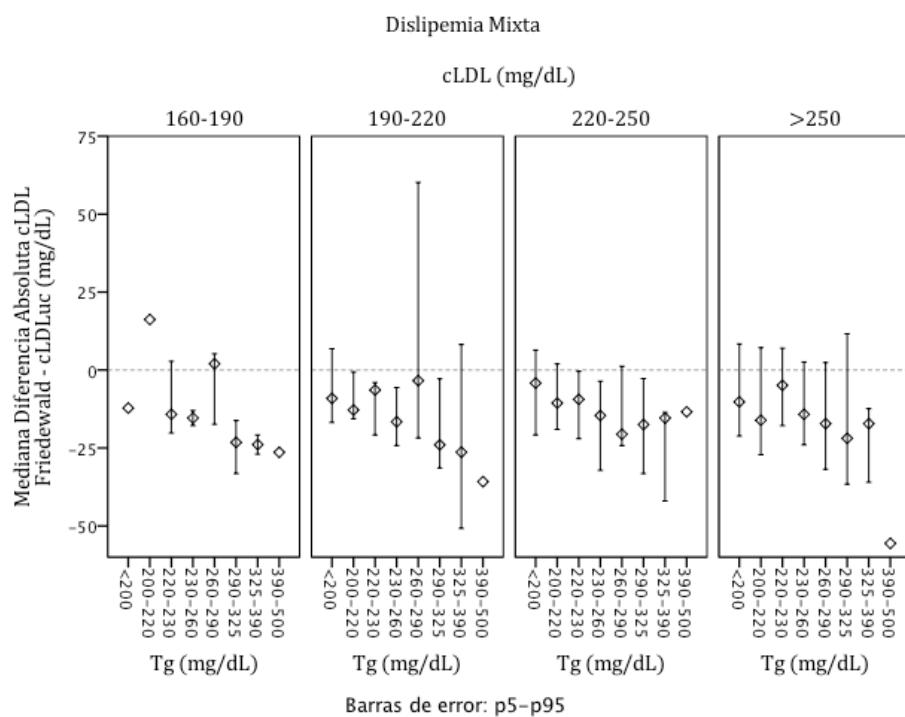
Figura 13. Distribución de la Diferencia Absoluta de cLDL calculado con la fórmula de Friedewald con respecto a los triglicéridos plasmáticos.



Cuando examinamos la Diferencia Absoluta de cLDL estratificando no sólo los triglicéridos plasmáticos sino también el valor de cLDL hemos visto que en el caso de

cLDL hasta 220 mg/dL, la afectación de los niveles de triglicéridos fue más seria, produciendo por tanto una mayor disminución del cLDL estimado mediante la fórmula de Friedewald (figura 14). Así, al comparar cLDL determinado por ultracentrifugación, con la estimación de Friedewald para niveles inferiores a 220 mg/dL hemos resaltado que aquellos con triglicéridos plasmáticos más elevados presentaban una mediana de la Diferencia Absoluta mayor, y por lo tanto la infraestimación fue mayor en esos casos. Cantidades de cLDL superiores a 220 mg/dL presentaron una infravaloración mediante el cálculo de Friedewald, pero la variabilidad con el nivel de triglicéridos no es tan pronunciada.

Figura 14. Distribución de la Diferencia absoluta de cLDL calculado con la fórmula de Friedewald con respecto a los triglicéridos plasmáticos y a los niveles de cLDL obtenidos por ultracentrifugación.



La prueba de rangos con signos de Wilcoxon nos ha permitido examinar el porcentaje de esta diferencia que proporciona un rango positivo y negativo, así como establecer si las diferencias entre las variables cLDL calculada y medida son significativas. Los resultados se recogieron en la tabla 21.

Tabla 21. Rangos de diferencia entre cLDL Friedewald y cLDL Luc.

cLDLFried - cLDL Luc	Rango negativo	Rango positivo	Empate	Significación
N (%)	139 (83%)	29 (17%)	0 (0%)	p < 0,001
Rango promedio	-94	39	-	-

Pudimos advertir que un 83% de los datos obtenidos mediante el uso de la fórmula de Friedewald infravaloraban el cLDL en un rango promedio de -94 mg/dL, y esta diferencia era significativa para un grado de confianza del 95%.

■ Concordancia de cLDL Friedewald con cLDL determinado por ultracentrifugación

Para valorar la afectación de estas diferencias en el ámbito clínico hemos calculado la concordancia del cLDL estimado y medido en base a su clasificación en grupos con un rango de 30 mg/dL, como enfatizan las guías de práctica clínica, comenzando con un rango de 160-190 mg/dL que es el primer intervalo donde se incluye nuestra población y hasta una concentración de 250 mg/dL. Estos rangos suponen un cambio en la actuación a seguir con respecto a la terapia, de ahí la importancia de la concordancia en la clasificación según las diferentes estimaciones de la magnitud cLDL. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 22.

Tabla 22. Concordancia en las clasificación por grupos de cLDL hechas según criterio de Friedewald y ultracentrifugación

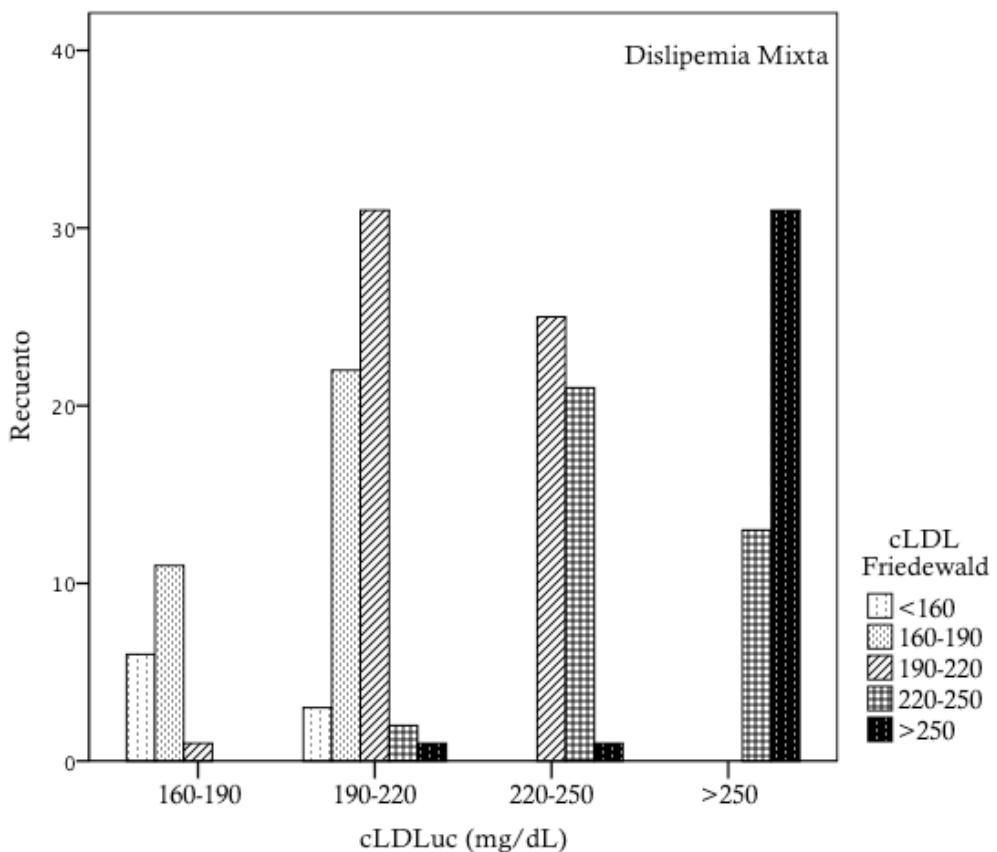
		cLDL Friedewald (mg/dL)				
		< 160	160-190	190-220	220-250	> 250
cLDL Luc (mg/dL)	< 160 (N=0)	-	-	-	-	-
	160-190 (N=18)	33,3%	61,1%	5,6%	-	-
	190-220 (N=59)	5,1%	37,3%	52,5%	3,4%	1,7%
	220-250 (N=47)	-	-	53,2%	44,7%	2,1%
	> 250 (N=44)	-	-	-	29,5%	70,5%

Índice Kappa = 0,411

El porcentaje de pacientes cuyo cLDL calculado mediante fórmula Friedewald y el medido por ultracentrifugación no coincide en el mismo rango, y por tanto recibirían

diferente actuación terapéutica en base a que la determinación del cLDL se haya hecho mediante un método u otro, fue más importante para los niveles de cLDL comprendidos entre 190 y 250 mg/dL. En el rango de 190 a 220 mg/dL se observó que para un 42,4% de la población se infraestimaban sus concentraciones de cLDL cuando se utilizaba la fórmula de Friedewald, y que la concordancia tenía lugar en el 52,5% de los casos. En el rango de cLDL entre 220 y 250 mg/dL, la distribución llegó a invertirse, con un porcentaje mayor de individuos para los que la estimación de su cLDL no era concordante (53,2% frente a un 44,7% concordante). El grado de concordancia global de la población se ha estimado mediante el Índice Kappa, que proporcionó un valor de 0,411 según el cual pudimos concluir que la concordancia de los datos era moderada. Estos datos se recogieron gráficamente en la figura 15.

Figura 15. Concordancia de los grupos de cLDL establecidos en base al cLDL calculado mediante fórmula de Friedewald y medido tras ultracentrifugación.



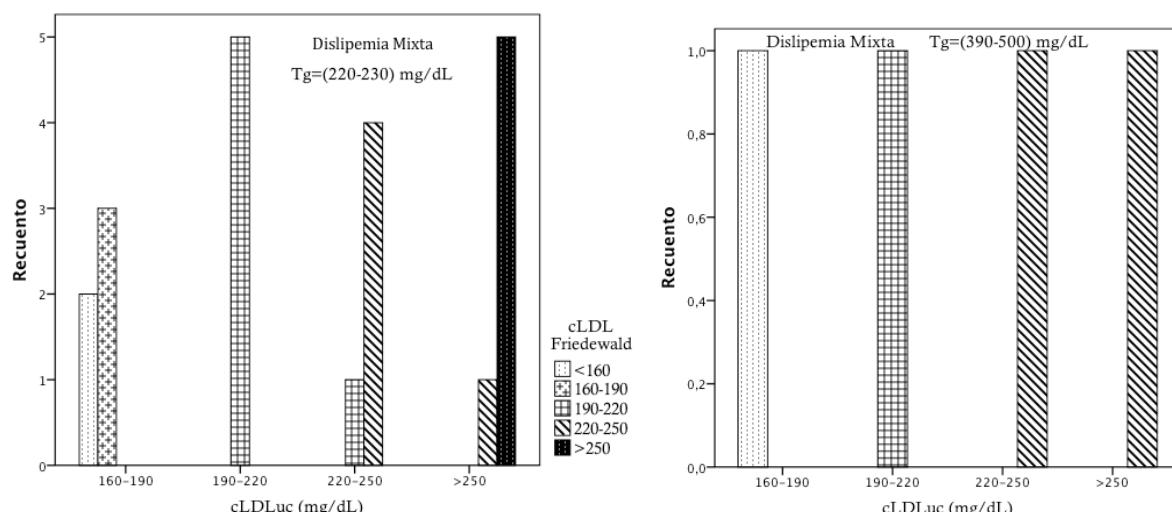
Cuando estudiamos la concordancia entre los niveles de cLDL estratificando los mismos por concentración de triglicéridos, obtuvimos los siguientes valores de kappa (tabla 23):

Tabla 23. Índice kappa de la distribución de los rangos de cLDL por nivel de triglicéridos.

Triglicéridos (mg/dL)								
	< 200	200-220	220-230	230-260	260-290	290-325	325-390	390-500
Índice Kappa	0,463	0,524	0,754	0,234	0,441	0,127	0,349	0,077
N	25	25	21	25	24	22	22	4

Pudimos observar un buen nivel de concordancia para triglicéridos comprendidos entre 220 y 230 mg/dL ($\kappa=0,754$) y que en el caso de triglicéridos superiores a 390 el grado de concordancia era pobre ($\kappa=0,077$), aunque en este caso es necesario considerar que el tamaño muestral era insuficiente, tan sólo 4 sujetos. Podemos observar gráficamente estos resultados (figura 16).

Figura 16. Grado de concordancia máximo (Tg=220-230 mg/dL) y mínimo (Tg=390-500mg/dL) según niveles de triglicéridos para cLDL.



■ Valoración del término correspondiente a cVLDL

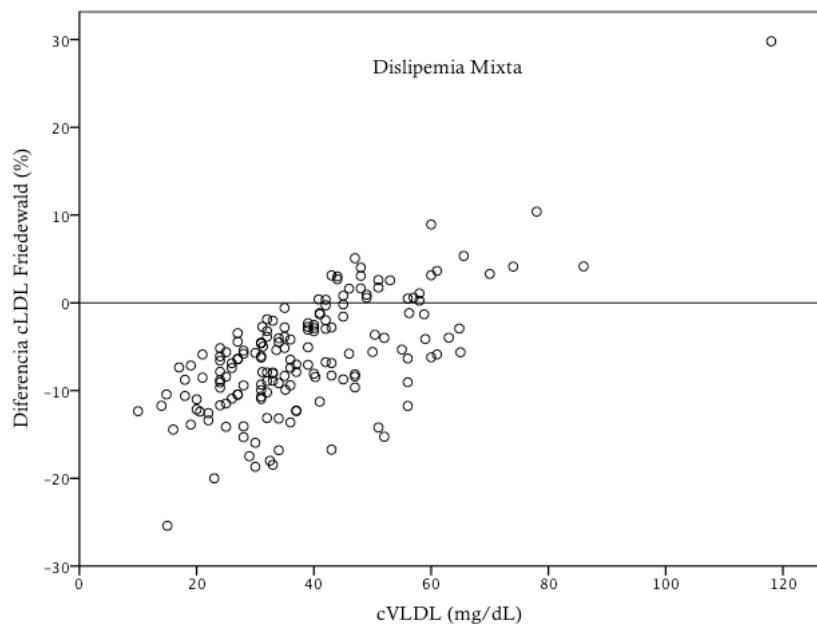
Una de las premisas de la fórmula de Friedewald es que la inexactitud correspondiente al término del colesterol contenido en las VDLD (cVLDL) era tolerable debido a su baja contribución en el cálculo. Para evaluarlo hemos representado en la figura 17 la dependencia del porcentaje de diferencia entre la estimación de cLDL Friedewald y

cLDL_{uc}, con las concentraciones de cVLDL medidas en la fracción de VLDL aislada por ultracentrifugación.

El porcentaje de diferencia entre cLDL Friedewald y cLDL_{uc} se obtiene de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Diferencia cLDL Friedewald}(\%) = \frac{(cLDL_f - cLDL_{uc})}{cLDL_{uc}} \times 100$$

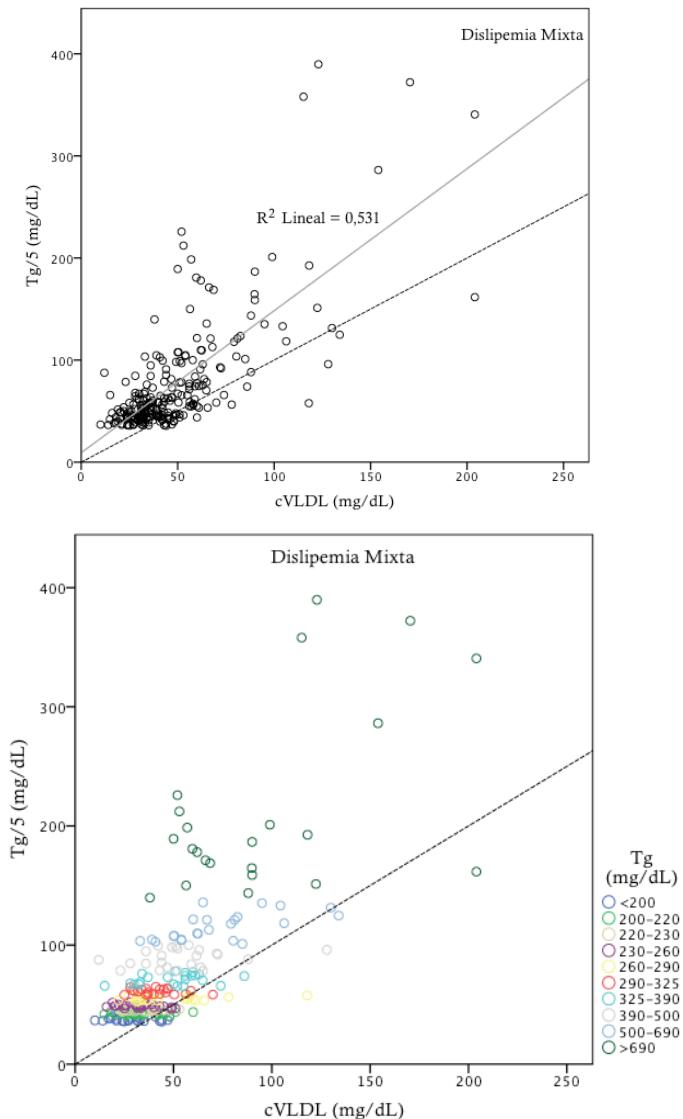
Figura 17. Diferencia en porcentaje del cLDL Friedewald respecto al determinado por ultracentrifugación, con la concentración de cVLDL.



Hemos distinguido que el porcentaje negativo en la diferencia de cLDL Friedewald se hace menor al aumentar la concentración de cVLDL.

Puesto que el término de cVLDL en la fórmula de Friedewald se valora mediante el cociente triglicéridos/5 procedimos a estimar el ajuste de estas dos magnitudes, que deberían de representar lo mismo, y por tanto distribuirse a lo largo de la diagonal del gráfico (figura 18).

Figura 18. Ajuste del término $Tg/5$ utilizado para estimar cVLDL en la fórmula de Friedewald con el cVLDL medido por ultracentrifugación.



La línea punteada, que indica el ajuste perfecto, nos ha confirmado que el término $Tg/5$ sobreestima la concentración de cVLDL en nuestra muestra, lo cual se traduce en una infraestimación de cLDL Friedewald. Dicha sobreestimación se advierte para todos los niveles de triglicéridos, siendo más pronunciada cuando la concentración es mayor.

Un ajuste por mínimos cuadrados de $Tg/5$ a cVLDL nos proporcionó una ecuación para hacer una estimación aproximada (ya que el factor de correlación de Spearman era de 0,531) del ratio $Tg:cVLDL$. A partir del percentil de cVLDL hemos calculado el término

Tg/5, y con él calculado el ratio Tg:cVLDL. En la tabla 24 se recogen los ratios estimados para los percentiles 10 a 90 de cVLDL.

Tabla 24. Estimación del ratio Tg:cVLDL en la población de pacientes con Dislipemia Mixta

Ecuación estimada: Tg/5 = 9,241 + 1,391*cVLDL (R²=0,531)		
cVLDL	Tg/5	Ratio Tg:cVLDL
p10 = 24	42,6	8,9
p20 = 29	49,6	8,6
p30 = 33	55,1	8,4
p40 = 36	59,3	8,2
p50 = 42	67,7	8,1
p60 = 47	74,6	7,9
p70 = 54	84,4	7,8
p80 = 62	95,5	7,7
p90 = 84	126,1	7,5

Según hemos podido advertir, nuestra población tiene un ratio Tg:cVLDL mayor que el utilizado en la estimación de Friedewald y que explicaría la infraestimación observada. Así para la mediana de cVLDL de nuestra muestra el ratio Tg:cVLDL fue de 8:1, 3 unidades superior al ratio 5:1 propuesto por Friedewald.

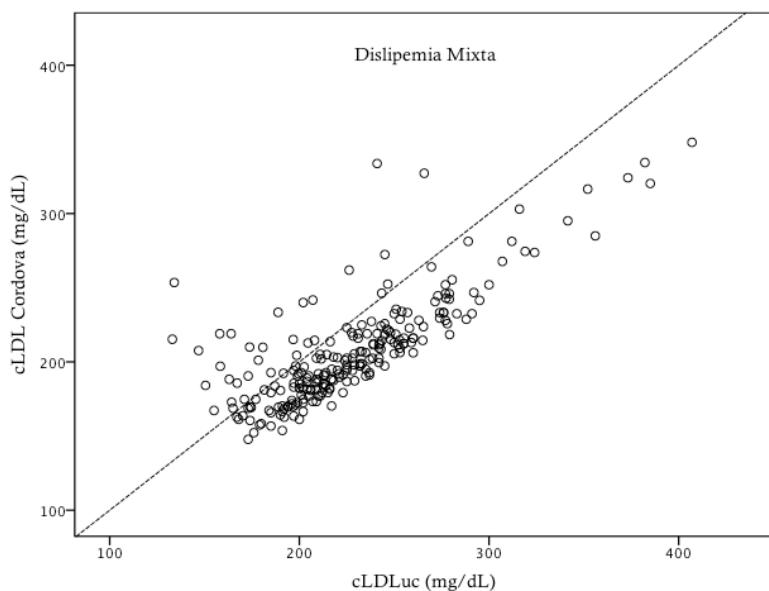
4.2.2. Ecuación de Cordova

■ Valoración de la ecuación de Cordova

La ecuación de Cordova, según la literatura, parece superar varias de las fórmulas anteriormente propuestas en un amplio rango de niveles lipídicos. En la presente tesis hemos evaluado su concordancia con los resultados obtenidos mediante ultracentrifugación para la muestra de estudio y su dependencia con los niveles de triglicéridos.

Para hacernos una idea del comportamiento de la fórmula en nuestra muestra la hemos comparado con el cLDL determinado por ultracentrifugación. La correlación que obtuvimos se muestra en la figura 19, donde la línea punteada representa una correlación perfecta. Constatamos de esta forma que la ecuación de Cordova infraestima el cLDL, siendo más visible esta infravaloración a medida que aumenta la concentración de cLDL.

Figura 19. Correlación entre cLDL calculado con la fórmula de Cordova y cLDL determinado por ultracentrifugación.

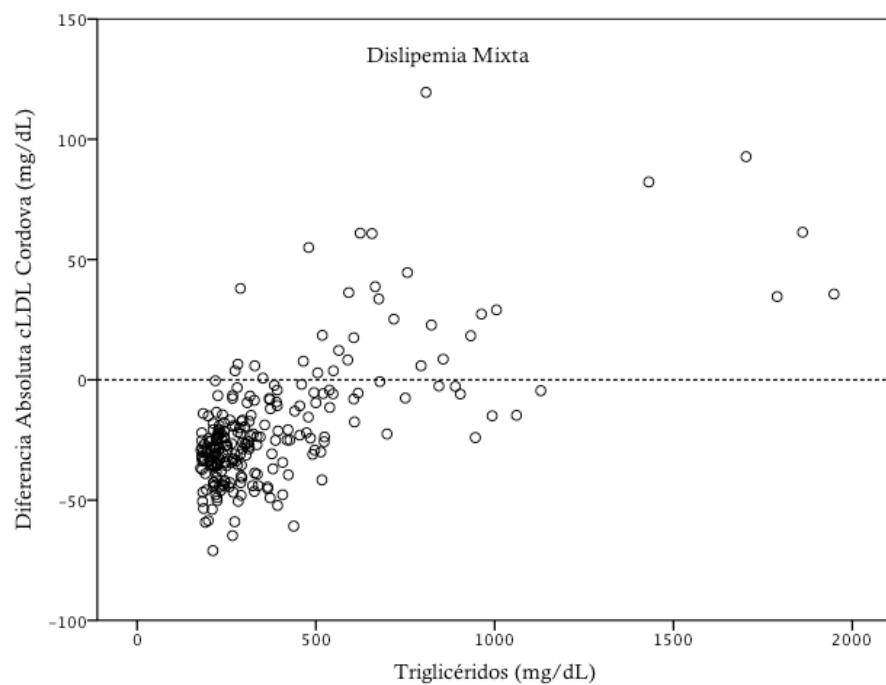


También hemos estimado su comportamiento con los niveles de triglicéridos de la muestra. Para ello hemos utilizado la variable Diferencia Absoluta de cLDL Cordova, definida como sigue:

$$\text{Diferencia Absoluta cLDL Cordova} = \text{cLDL Cordova} - \text{cLDLUC}$$

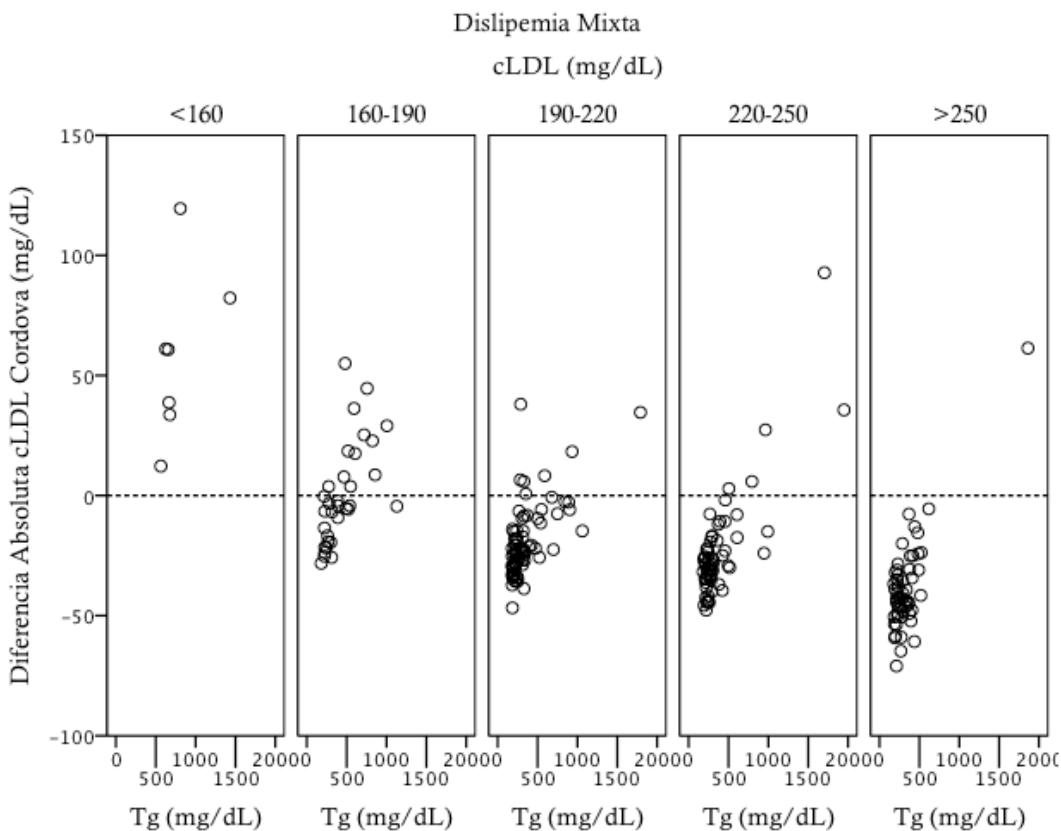
Idealmente esperaríamos que esta diferencia se aproxime a cero. Al estudiar su comportamiento con los niveles de triglicéridos hemos advertido que infravalora de forma importante el cLDL cuando las concentraciones de triglicéridos son inferiores a 500 mg/dL (figura 20).

Figura 20. Discrepancia entre el cLDL calculado con fórmula de Cordova y el determinado por ultracentrifugación para distintos niveles de triglicéridos.



El examen de dependencia conjunto con cLDL y triglicéridos nos confirmó una infravaloración del cLDL calculado con la ecuación de Cordova para concentraciones de triglicéridos inferiores a 500 mg/dL, que comienza a apreciarse para cLDL por encima de 160 mg/dL y que es más acusada a medida que aumentan los niveles de cLDL (figura 21).

Figura 21. Diferencia Absoluta de cLDL calculado mediante la fórmula de Cordova estratificado por niveles plasmáticos de triglicéridos y cLDL.



En la tabla 25 se recoge el estudio de rangos de Wilcoxon para el cLDL estimado con la fórmula de Cordova, que nos indica que un 86% de las estimaciones realizadas infravaloran el cLDL en 118 mg/dL, de rango promedio. Además cuando se produce sobrevaloración, ésta es de 114 mg/dL como promedio. Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 25. Rangos de diferencia entre cLDL Cordova y cLDLc.

cLDL Cord - cLDLc	Rango negativo	Rango positivo	Empate	Significación
N (%)	202 (86%)	32 (14%)	0 (0%)	p < 0,001
Rango promedio	-118	114	-	-

■ Concordancia del cálculo de Cordova con el cLDL determinado por ultracentrifugación

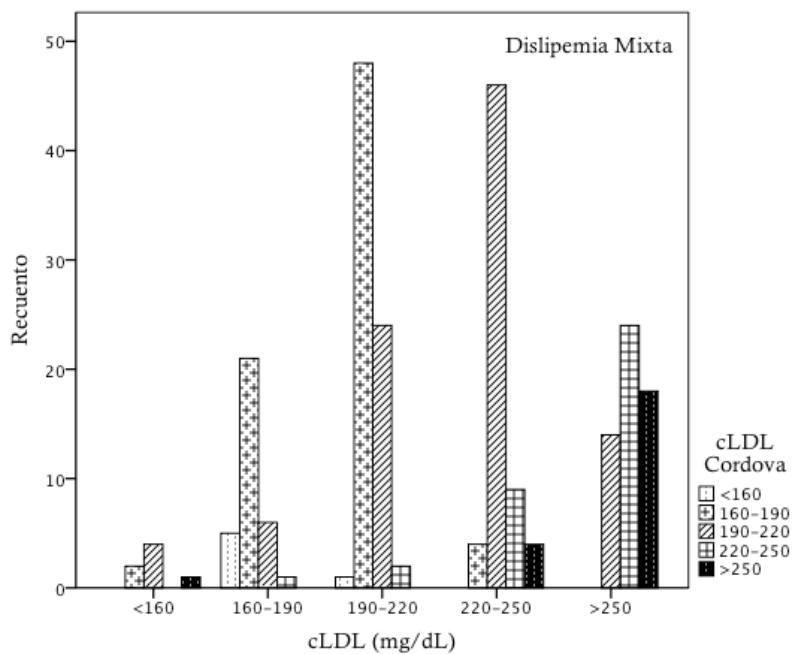
La repercusión de estos resultados en las decisiones clínicas que se tomarían se estimó mediante un análisis de concordancia entre el cLDL calculado mediante la fórmula de Cordova y la determinación por ultracentrifugación. El índice Kappa (0,089) que obtuvimos se asocia a una concordancia pobre, como se puede apreciar en la tabla 25 y gráficamente en la figura 22.

Tabla 26. Análisis de concordancia entre cLDL Cordova y cLDL Luc.

		cLDL Cordova (mg/dL)				
		< 160	160-190	190-220	220-250	> 250
cLDL Luc (mg/dL)	< 160 (N=7)	-	28,6%	57,1%	-	14,3%
	160-190 (N=33)	15,2%	63,6%	18,2%	3%	-
	190-220 (N=75)	1,3%	64%	32%	2,7%	-
	220-250 (N=63)	-	6,3%	73%	14,3%	6,3%
	> 250 (N=56)	-	-	25%	42,9%	32,1%

Índice Kappa = 0,089

Figura 22. Concordancia de los grupos de cLDL establecidos en base al cLDL calculado mediante fórmula de Cordova y medido tras ultracentrifugación.



Puesto que habíamos comprobado que existía una dependencia de la correlación entre las dos variables con los triglicéridos plasmáticos, hemos estudiado la concordancia para niveles de triglicéridos distribuidos en rangos según percentiles 10 a 90. Los índices kappa que obtuvimos fueron (tabla 27)

Tabla 27. Índices kappa para la concordancia entre cLDL Cordova y cLDL Luc estratificados por triglicéridos.

		Triglicéridos (mg/dL)									
		< 200	200- 220	220- 230	230- 260	260- 290	290- 325	325- 390	390- 500	500- 690	>690
Ind.Kappa		-0,193	-0,105	-0,080	-0,183	0,167	0,111	0,493	0,189	0,389	0,312
N		25	25	21	25	24	22	24	24	23	23

Los índices kappa apuntaron hacia una concordancia mayor para niveles de triglicéridos superiores a 325 mg/dL. Únicamente para estos rangos podríamos hablar de una concordancia débil a moderada.

4.3. Valoración del uso de colesterol no HDL y apo B100 como segundos objetivos

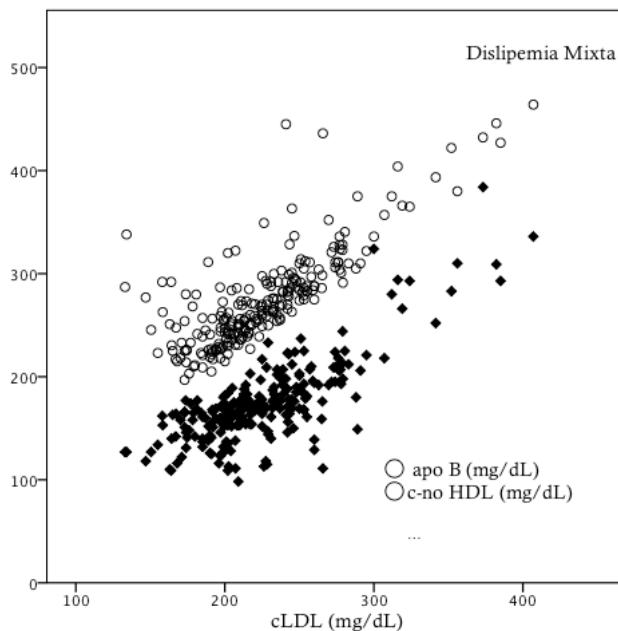
4.3.1. Correlación de variables

En primer lugar es necesario valorar el comportamiento de las magnitudes que pretendemos usar como segundos objetivos frente al cLDL (objetivo estándar de las principales guías clínicas). Al estudiar la correlación del cLDL con colesterol noHDL y apo B100 (figura 23), hemos distinguido que la correlación de cLDL con c-noHDL presenta un coeficiente de correlación de Spearman mejor que con apo B100 (tabla 28), aunque en ambos casos la correlación es significativa.

Tabla 28. Correlaciones de cLDL con c-noHDL y apo B100.

		c-noHDL	apo B100
cLDL	Rho de Spearman	0,774	0,698
	p	< 0,001	< 0,001
	N	235	235

Figura 23. Correlación del cLDL con c-noHDL y con apo B100.



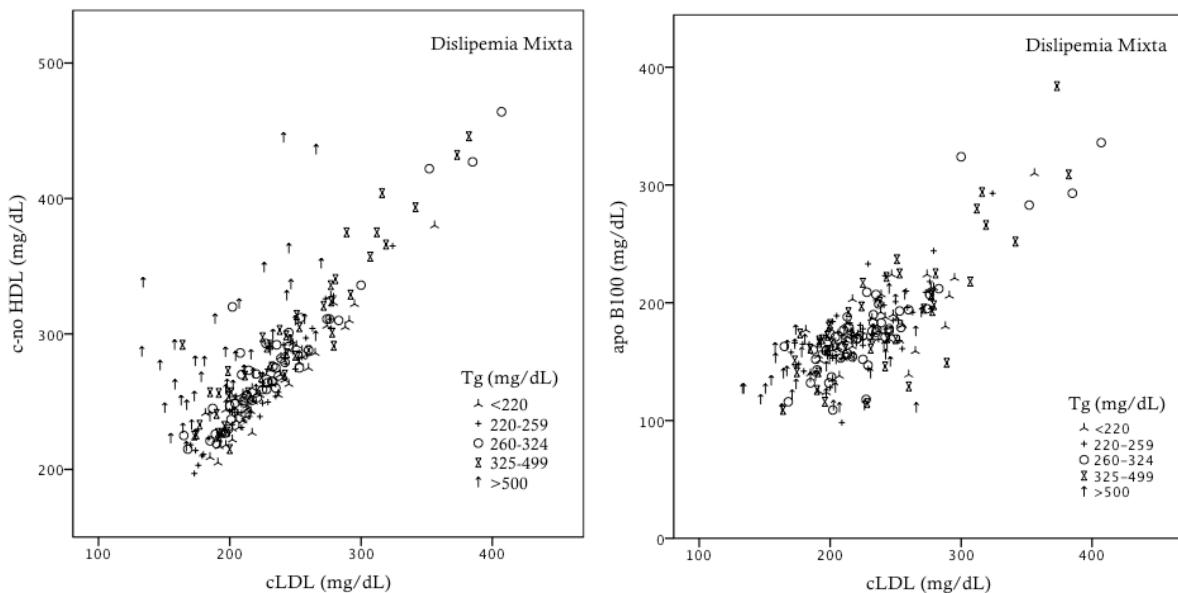
Cuando hicimos la correlación controlando para la variable triglicéridos, los coeficientes de Spearman quedaron como sigue (tabla 29):

Tabla 29. Correlaciones de cLDL con c-noHDL y apo B100 controladas para niveles de triglicéridos.

		c-noHDL	apo B100
cLDL	Rho de Spearman	0,900	0,782
	p	< 0,001	< 0,001
	N	235	235

En ambos casos se ha mejorado la correlación, siendo esta mejora más importante para el c-noHDL. En la figura 24 podemos percibir la dependencia de estas variables con los niveles de triglicéridos. Se puede distinguir una mayor dispersión del ajuste del c-noHDL para los niveles de triglicéridos más altos.

Figura 24. Correlación entre cLDL y c-noHDL/apo B100, ajustado por niveles de triglicéridos.



Los coeficientes de correlación específicos para cada rango de triglicéridos se recogen en la tabla 30.

Tabla 30. Dependencia de la correlación entre cLDL y c-noHDL/apo B100 con los triglicéridos plasmáticos. Coeficientes de correlación en los distintos rangos de triglicéridos.

	Triglicéridos (mg/dL)	Rho Spearman	p
c-noHDL	< 220	0,933	< 0,001
	220 – 260	0,948	< 0,001
	260 – 325	0,854	< 0,001
	325 – 500	0,893	< 0,001
	> 500	0,601	< 0,001
apo B100	< 220	0,691	< 0,001
	220 – 260	0,727	< 0,001
	260 – 325	0,797	< 0,001
	325 – 500	0,717	< 0,001
	> 500	0,454	0,002

Las correlaciones tanto entre cLDL y c-noHDL, como entre cLDL y apo B100 mantienen aproximadamente su coeficiente de correlación constante hasta unas concentraciones de triglicéridos mayores de 500 mg/dL. En el caso de apo B100 hemos

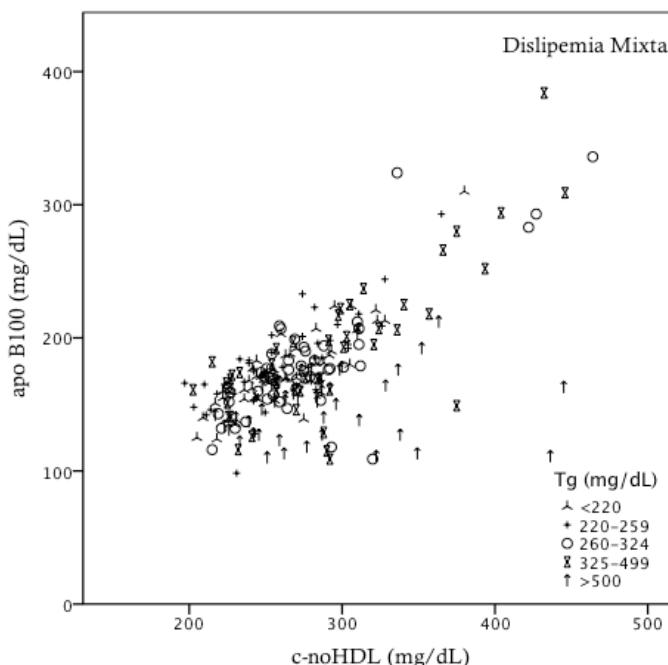
subrayado una disminución drástica de la correlación entre ambas variables, aunque sin llegar a perder la significación.

Entre las variables alternativas de estimación de riesgo cardiovascular, la correlación es la que sigue (tabla 31 y figura 25). La correlación se ve claramente afectada por los niveles de triglicéridos, estando próxima a perder la significación para concentraciones de triglicéridos superiores a 500 mg/dL.

Tabla 31. Correlaciones entre c-noHDL y apo B100, de forma global y por rangos de triglicéridos.

	Rho Spearman	p	Triglicéridos (mg/dL)	Rho Spearman	p
c-noHDL vs apo B100	0,529	<0,001	< 220	0,781	< 0,001
			220 – 260	0,725	< 0,001
			260 – 325	0,594	< 0,001
			325 – 500	0,662	< 0,001
			> 500	0,309	0,036

Figura 25. Correlación entre c-noHDL y apo B100



4.3.2. Clasificación de pacientes en base a objetivos primarios (cLDL) y secundarios (c-noHDL y apo B100)

Se hizo una estratificación de los pacientes según intervalos de cLDL, c-noHDL y apo B100, teniendo en cuenta que los rangos de nuestra muestra eran: [133-407], [197-464] y [98-384] respectivamente.

La amplitud de los intervalos de cLDL y c-noHDL fue de 30 mg/dL como recomiendan las guías clínicas y de 20 mg/dL para la apo B100. Además los rangos de c-noHDL se calcularon sumando 30 mg/dL al nivel de cLDL como se establecen los rangos objetivos de las guías clínicas. Las categorías de apo B100 se basan en las recomendaciones de la ATP III. Los intervalos para las distintas magnitudes quedan como se recoge en la tabla 32.

Tabla 32. Rangos de equivalencia entre cLDL, c-no HDL y apo B100.

cLDL (mg/dL)		c-noHDL (mg/dL)		apo B100 (mg/dL)	
<160	N=7	<190	N=0	<130	N=24
160-189	N=33	190-219	N=15	130-149	N=26
190-219	N=75	220-249	N=60	150-159	N=73
220-249	N=63	250-279	N=68	160-189	N=52
≥ 250	N=57	≥ 280	N=92	≥ 190	N=60

El número de individuos totales es: N=235

■ Concordancias para c-noHDL

Las concordancias que encontramos para estos intervalos se representan en la tabla 33:

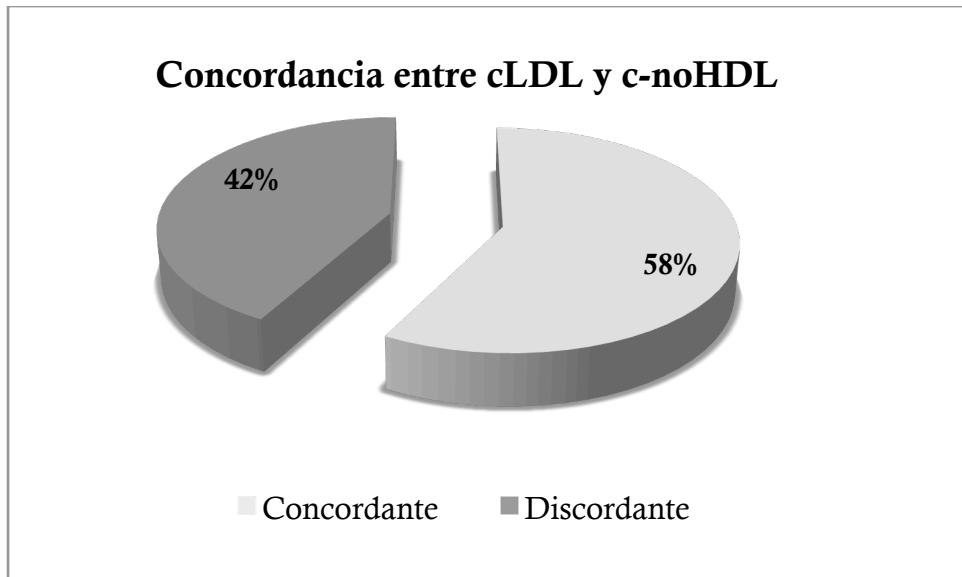
Tabla 33. Concordancias entre los rangos establecidos como equivalentes de cLDL y c-noHDL.

		c-no HDL (mg/dL)				
		< 190	190-219	220-249	250-279	≥ 280
cLDL (mg/dL)	< 160 (N=7)	-	-	2 (29%)	2 (29%)	3 (43%)
	160-189 (N=33)	-	10 (30%)	15 (45%)	6 (18%)	2 (6%)
	190-219 (N=75)	-	4 (5%)	40 (53%)	25 (33%)	6 (8%)
	220-249 (N=63)	-	-	3 (5%)	32 (51%)	28 (44%)
	≥ 250 (N=57)	-	-	-	3 (5%)	54 (95%)

Índice Kappa = 0,426

Hemos observado una concordancia moderada, con un factor kappa de 0,426. Un 58% de los datos de la población de pacientes con Dislipemia Mixta presentó discordancia entre el rango de cLDL y c-noHDL (figura 26). El mayor porcentaje de valores coincidentes se observó para las concentraciones de cLDL mayores ($cLDL \geq 250$), y con una variabilidad de concordancia para concentraciones menores importante, entre el 30 y el 95%.

Figura 26. Concordancia entre el cLDL y el c-noHDL en la muestra de pacientes con Dislipemia Mixta.



En la tabla 34 hemos desglosamos este estudio por niveles de triglicéridos.

Tabla 34. Estudio de discordancias entre cLDL y c-noHDL estratificado por niveles de triglicéridos.

cLDL	c-noHDL	Triglicéridos				
		< 220	220-259	260-324	325-499	≥ 500
<160	< 190	-	-	-	-	-
	190-219	-	-	-	-	-
	220-249	-	-	-	-	2
	250-279	-	-	-	-	2
	≥ 280	-	-	-	-	3
160-189	< 190	-	-	-	-	-
	190-219	1	6	2	0	1
	220-249	1	1	4	4	5
	250-279	-	-	-	4	5
	≥ 280	-	-	-	1	1
190-219	< 190	-	-	-	-	-
	190-219	3	-	-	1	-
	220-249	15	13	5	5	2
	250-279	5	1	6	6	7
	≥ 280	-	-	2	-	4
220-249	< 190	-	-	-	-	-
	190-219	-	-	-	-	-
	220-249	-	3	-	-	-
	250-279	9	8	12	3	-
	≥ 280	3	3	5	7	10
≥ 250	< 190	-	-	-	-	-
	190-219	-	-	-	-	-
	220-249	-	-	-	-	-
	250-279	2	-	1	-	-
	≥ 280	11	11	9	18	4

Hemos podido observar que para niveles de cLDL < 160 mg/dL, el 100% de las discordancias ocurrieron en individuos con triglicéridos superiores a 500 mg/dL. Con concentraciones de cLDL comprendidas entre 160 y 189 mg/dL, el 64% de las discordancias tuvieron lugar en pacientes con triglicéridos > 260 mg/dL, y de estos el 33% tenían niveles por encima de 500 mg/dL. En el intervalo de concentración de cLDL 190-219 mg/dL obtuvimos un 4% de discordancia en la que el rango de c-noHDL es menor que el rango de cLDL y un 41% proporcionó una discordancia positiva a favor de c-noHDL, de éstos el 15% se asociaron a triglicéridos superiores a 500 mg/dL. Para el

rango de cLDL 220-249 mg/dL hemos notado que el 55% de las muestras presentaban un rango de c-noHDL inferior al rango correspondiente para esos niveles de cLDL. Todos ellos tenían triglicéridos plasmáticos inferiores a 500 mg/dL, siendo más frecuentes niveles de triglicéridos menores de 325 mg/dL. Los niveles de cLDL > 280 mg/dL únicamente presentaron una discordancia del 5%, y siempre para niveles de triglicéridos por debajo de 325 mg/dL.

El porcentaje de acuerdo entre cLDL y c-noHDL según intervalos de triglicéridos se recoge en la tabla 35.

Tabla 35. Porcentaje de acuerdo entre cLDL y c-noHDL según niveles de triglicéridos.

		Triglicéridos (mg/dL)				
		< 220	220-259	260-324	325-499	≥ 500
Acuerdo (%)		72	83	61	53	15
N		50	46	46	49	46

De acuerdo a esta clasificación de individuos estratificada por niveles de triglicéridos plasmáticos, los índices kappa para los distintos intervalos quedan como se recoge en la tabla 36.

Tabla 36. Índices kappa cuando se aplica la estratificación por concentraciones de triglicéridos.

		cLDL (mg/dL)				
		< 160	160-189	190-219	220-249	260-290
Índ.Kappa		0,000	0,203	0,037	0,051	0,167
N		7	33	75	63	56

■ Concordancias para apo B100

En el caso de apo B100 las concordancias entre intervalos se recogieron en la tabla 37.

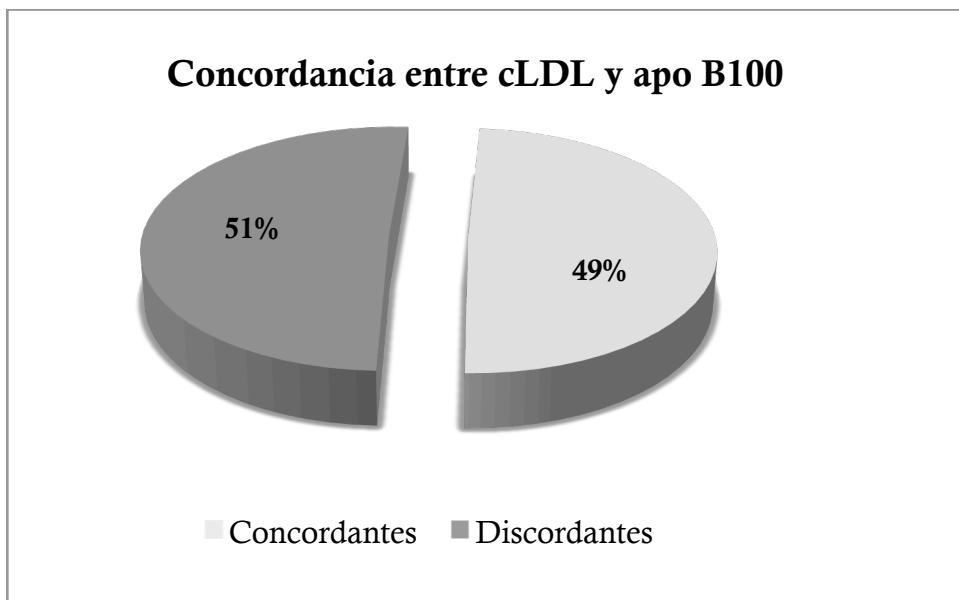
Tabla 37. Grado de concordancia entre los rangos de cLDL y sus equivalentes en apo B100.

		apo B100 (mg/dL)				
		< 130	130-149	150-169	170-189	≥ 190
cLDL (mg/dL)	< 160 (N=7)	4 (57%)	1 (14%)	2 (29%)	-	-
	160-189 (N=33)	5 (15%)	12 (36%)	13 (39%)	3 (10%)	-
	190-219 (N=75)	10 (13%)	6 (8%)	37 (49%)	20 (27%)	2 (3%)
	220-249 (N=63)	3 (5%)	5 (8%)	16 (25%)	22 (35%)	17 (27%)
	≥ 250 (N=55)	2 (3,5%)	2 (3,5%)	4 (7%)	7 (13%)	40 (73%)

Índice Kappa = 0,335

Tan sólo hemos encontrado concordancia para una 49% de la población estudiada (figura 27), con un grado de acuerdo débil ($\kappa=0,335$).

Figura 27. Concordancia entre cLDL y apo B100 en Dislipemia Mixta



Al desglosar el estudio por rangos de triglicéridos (tabla 38) hemos notado que el 100% del desacuerdo en cLDL menores de 160 mg/dL tuvo lugar cuando los triglicéridos eran iguales o superiores a 500 mg/dL; del 64% de discordancia en el rango de cLDL comprendido entre 160 y 189 mg/dL, el 33% correspondió a hipertrigliceridemias superiores a 500 mg/dL; un 51% de los individuos con cLDL en rango 190-219 mg/dL presentan una discordancia con el rango equivalente de apo B100, de ellos el 35% tenían niveles de triglicéridos inferiores a 325 mg/dL; cuando las concentraciones de cLDL

están comprendidas entre 220 y 249 mg/dL el 65% de los individuos presentan valores discordantes entre cLDL y apo B100, con una distribución proporcionada a lo largo de los niveles de triglicéridos. En valores extremos de cLDL superiores a 250 mg/dL el porcentaje discordante es del 37% y éstos se concentran cuando los triglicéridos plasmáticos fueron inferiores a 325 mg/dL (28%).

Tabla 38. Acuerdo entre cLDL y apo B100 dividido para rangos de triglyceridemia.

cLDL	apo B100	Triglicéridos				
		< 220	220-259	260-324	325-499	≥ 500
<160	< 130	-	-	-	-	4
	130-149	-	-	-	-	1
	150-169	-	-	-	-	2
	170-189	-	-	-	-	-
	≥ 190	-	-	-	-	-
160-189	< 130	-	-	1	2	2
	130-149	1	3	2	1	5
	150-169	-	4	3	2	4
	170-189	1	-	-	1	1
	≥ 190	-	-	-	-	-
190-219	< 130	2	2	1	1	4
	130-149	2	-	2	1	1
	150-169	13	6	5	6	7
	170-189	5	6	5	3	1
	≥ 190	1	-	-	1	-
220-249	< 130	-	-	1	1	1
	130-149	-	1	1	1	2
	150-169	3	3	3	4	3
	170-189	6	5	9	-	2
	≥ 190	3	5	3	4	2
≥ 250	< 130	-	-	-	1	1
	130-149	1	-	-	1	-
	150-169	2	2	-	-	-
	170-189	4	1	1	-	1
	≥ 190	6	8	9	15	2

Si estudiamos el porcentaje de acuerdo para estas dos magnitudes según los niveles de triglicéridos obtenemos (tabla 39):

Tabla 39. Porcentaje de acuerdo entre cLDL y apo B100 según niveles de triglicéridos.

	Triglicéridos (mg/dL)				
	< 220	220-259	260-324	325-499	≥ 500
Acuerdo (%)	72	83	61	53	15
N	50	46	46	49	46

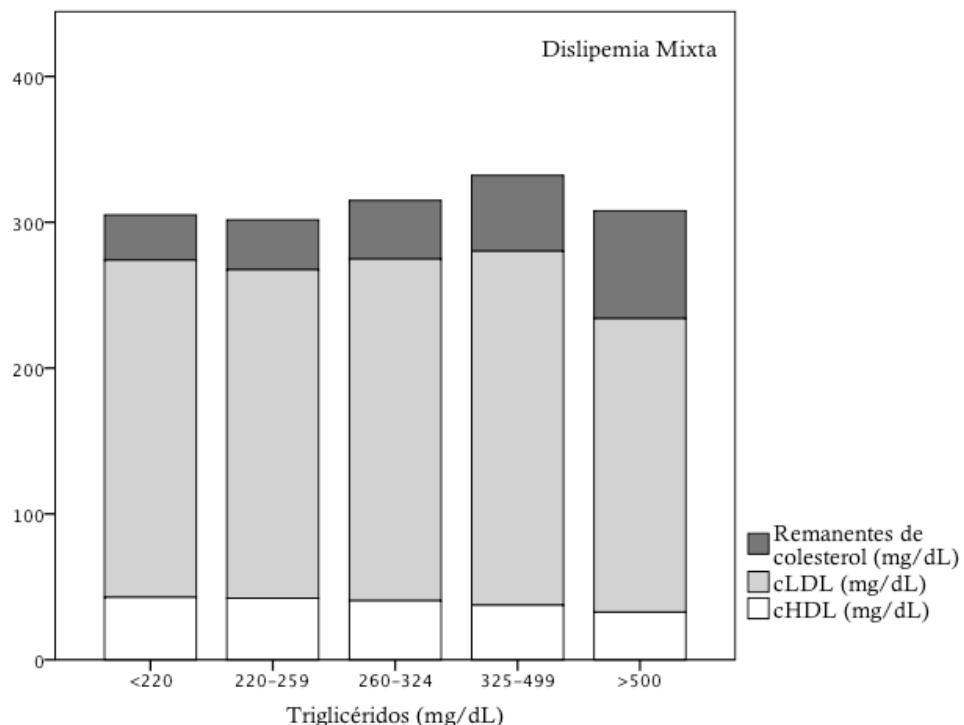
4.4. Estimación de los remanentes de colesterol y valoración de su uso como marcadores de riesgo cardiovascular en la Dislipemia Mixta

Los remanentes de colesterol se han calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Remanentes colesterol} = \text{Colesterol total} - (\text{Colesterol HDL} - \text{Colesterol LDL})$$

La elevación de los niveles plasmáticos de triglicéridos se asoció a concentraciones de remanentes de colesterol más altas, y a niveles de colesterol HDL ligeramente inferiores para hipertrigliceridemias severas (triglicéridos > 500 mg/dL). El colesterol LDL se mantiene prácticamente constante, con una pequeña disminución cuando los triglicéridos superan los 500 mg/dL (figura 28).

Figura 28. Colesterol de las distintas lipoproteínas en función del incremento de los triglicéridos.



En la tabla 40 se recogió la correlación del colesterol en las distintas fracciones lipoproteicas entre sí, y con los triglicéridos.

Tabla 40. Matriz de correlación de lípidos y lipoproteínas.

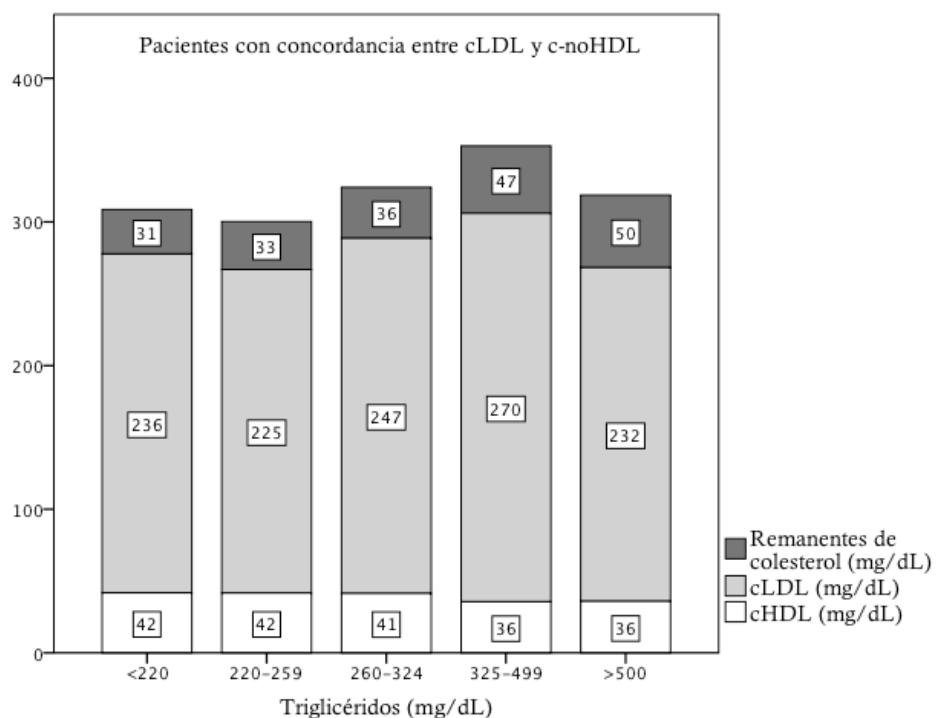
ρ^* p	Remanentes colesterol	cHDL	cLDL	Triglicéridos
Remanentes colesterol		-0,275 **	-0,181 **	0,672 **
cHDL	0,000		0,086	-0,357 **
cLDL	0,006	0,192		-0,165 **
Triglicéridos	0,000	0,000	0,011	

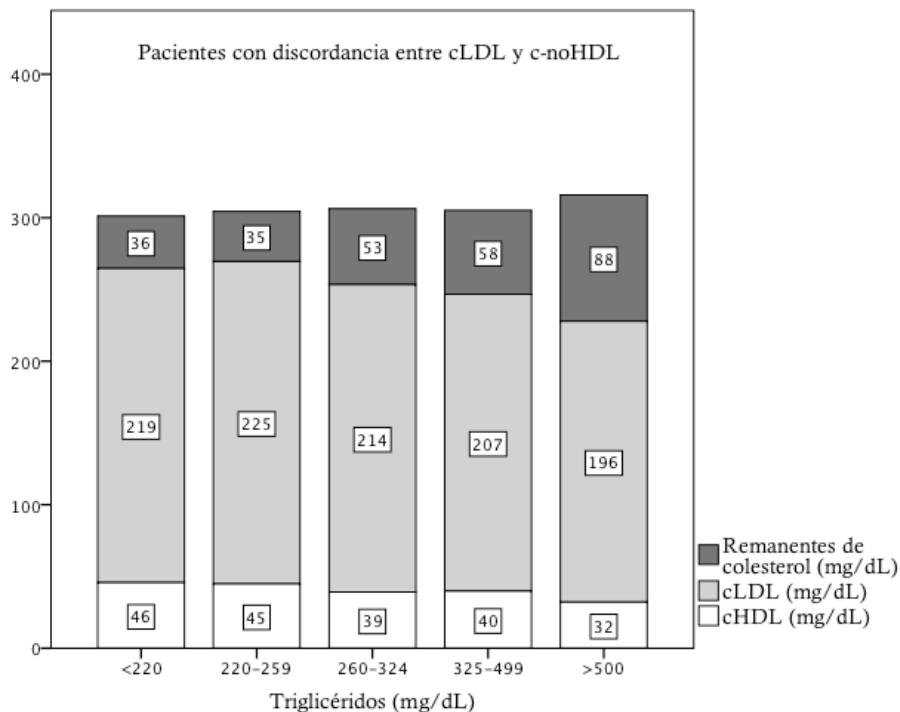
* ρ : Rho de Spearman
**Correlación significativa al nivel 0,05 (bilateral)

Los remanentes de colesterol estaban fuertemente correlacionados con los niveles de triglicéridos ($\rho=0,672$, $p<0,001$). También se ha observado una correlación inversa con cHDL y en menor medida con cLDL (coeficientes de correlación de Spearman: $\rho= -0,275$, y $\rho= -0,181$, respectivamente).

Hemos comparado la distribución de colesterol en las distintas lipoproteínas para aquellos individuos que presentaban una concordancia entre los intervalos de cLDL y sus equivalentes de c-noHDL, con los que presentaban discordancia (figura 29).

Figura 29. Distribución de lípidos y lipoproteínas en pacientes con intervalos de cLDL y c-noHDL concordantes y discordantes.

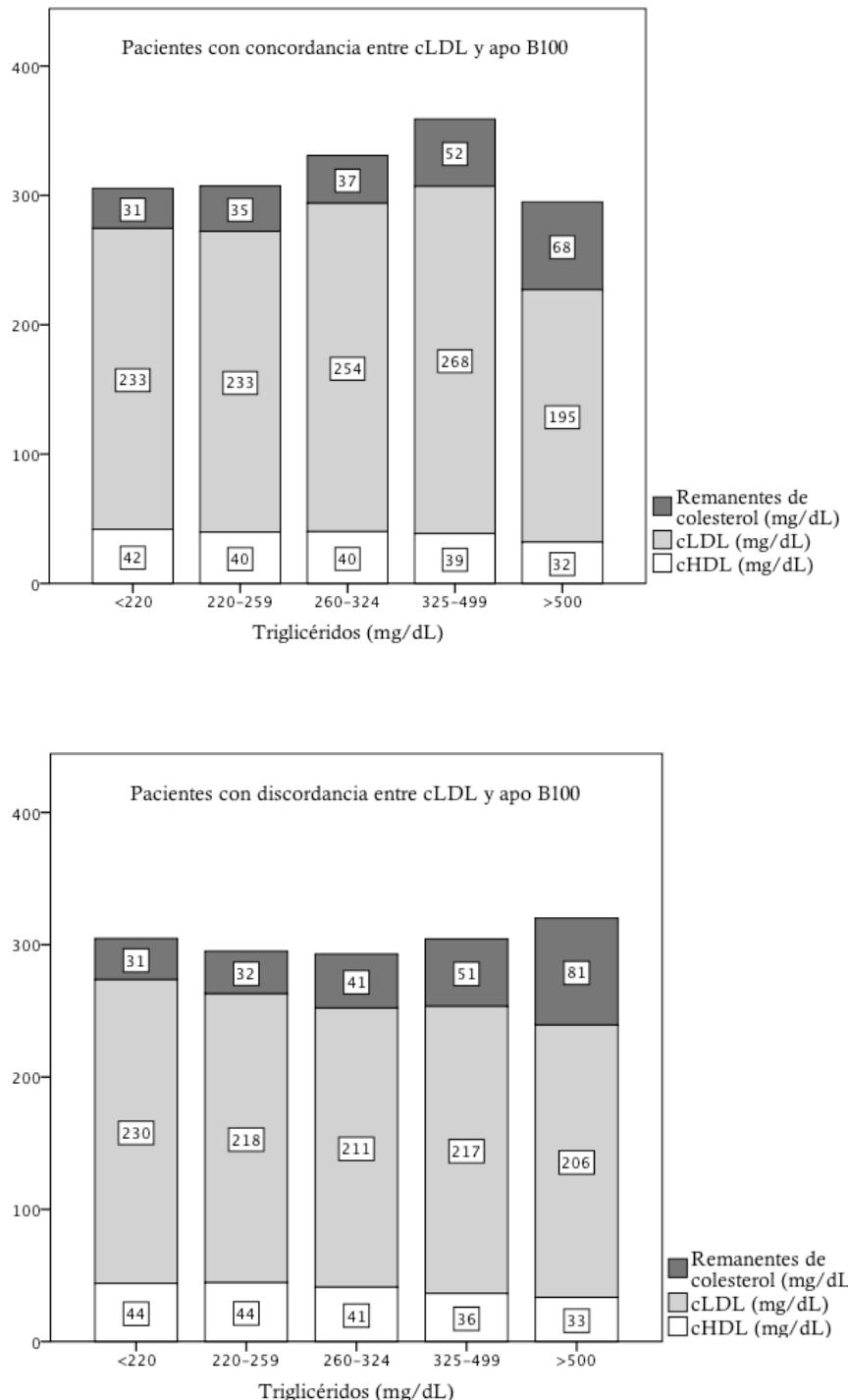




Hemos percibido que los pacientes con discordancia entre los intervalos equivalentes de cLDL y c-noHDL presentaban una mediana de remanentes de colesterol mayor, y además en ellos la disminución del cHDL también era ligeramente superior. Así mientras que para los individuos en que existía concordancia, la variación en los remanentes de colesterol era de 19 mg/dL, en lo que no había concordancia esta variación aumentaba hasta los 52 mg/dL. Con el cHDL observábamos algo similar pero en sentido contrario, con una disminución desde los -6 mg/dL hasta los -14 mg/dL.

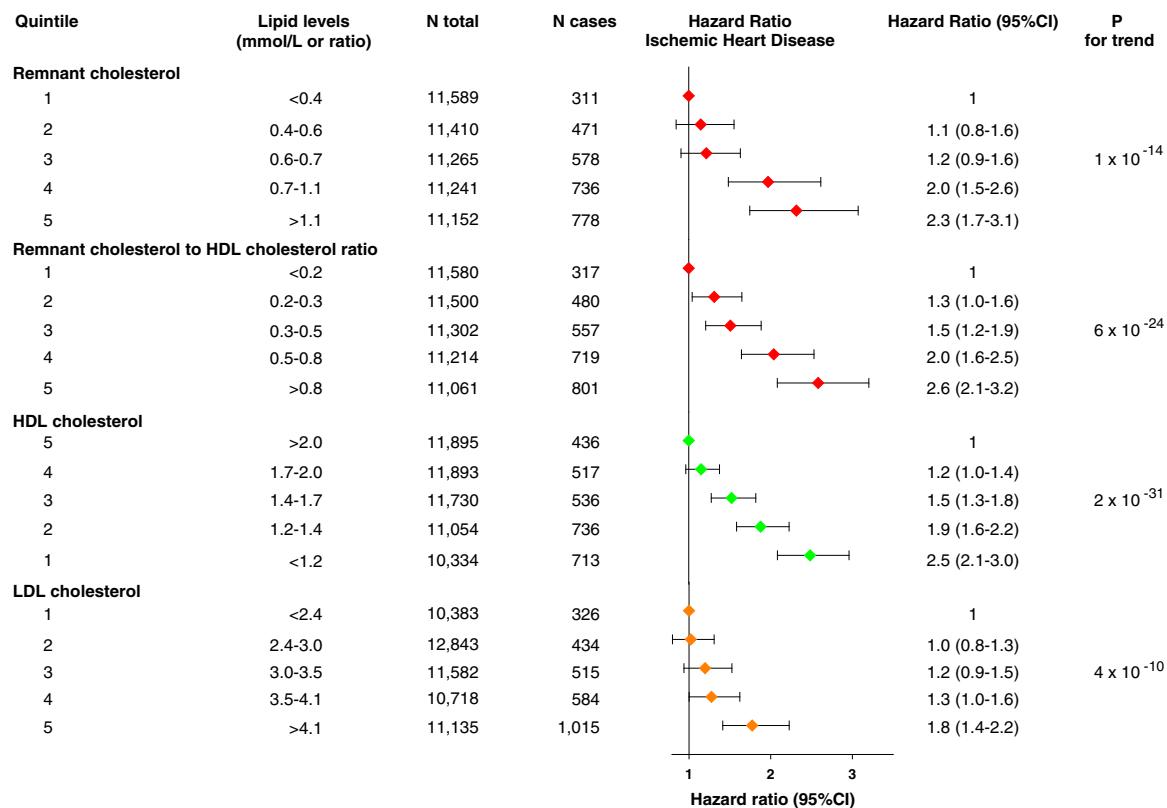
Cuando hicimos el mismo estudio para los grupos de pacientes con concordancia/discordancia entre cLDL y apo B100, obtuvimos unos datos similares a los anteriores (figura 30). La mediana de los remanentes era mayor en el grupo de pacientes con discordancia, sin embargo los niveles de cHDL se vieron menos afectados. De nuevo se observa una diferencia, aunque menos pronunciada, entre el grupo concordante y el discordante. Para los remanentes de colesterol hemos observado una variación de 37 a 50 mg/dL, mientras que la diferencia en la concentración de cHDL se mantiene (de -10 a -11 mg/dL).

Figura 30. Distribución de lípidos y lipoproteínas en pacientes con intervalos de cLDL y apo B100 concordantes y discordantes.



De acuerdo a los datos obtenidos en el estudio de Varbo et al. Para estos niveles de remanentes se estima que se asocian a un incremento de riesgo cardiovascular de aproximadamente, un 2,3 (figura 32).

Figura 31. Niveles de lipoproteínas en quintiles y riesgo de enfermedad cardiovascular en la población general (102).



DISCUSIÓN

5.1. Identificación de un patrón lipoproteico asociado a Dislipemias Mixtas

Una de las actividades más habituales en las consultas de atención primaria, por la prevalencia de la entidad, es la detección, el diagnóstico y la evaluación clínica de los pacientes con dislipemia.

El diagnóstico de las dislipemias en general se basa en la comprobación analítica de la alteración lipídica, en base a un perfil lipídico básico que incluye: colesterol total, triglicéridos, cLDL (habitualmente calculado mediante la fórmula de Friedewald) y cHDL.

En la población de estudio, pacientes con Dislipemia Mixta, el perfil lipídico básico se caracteriza por concentraciones elevadas de colesterol total, triglicéridos y cLDL, mientras que cHDL se haya disminuido. Estas diferencias son significativas en todos los casos con respecto a la muestra control. El incremento del cLDL y la diminución de cHDL ponen de manifiesto el aumento del riesgo cardiovascular de estos pacientes.

Otras determinaciones que pueden ayudar al diagnóstico y caracterización de la dislipemias son la apo A1 y apo B100. La apo B100 constituye la mayor parte del contenido proteico de las LDL y también está presente en las IDL y VLDL, y la apo A1 es la principal apolipoproteína de las HDL. Por tanto, ambas apolipoproteínas aportan por separado gran información para la detección de individuos con alto riesgo. En los pacientes con Dislipemia Mixta observamos un aumento significativo de los niveles de apo B100 con respecto a la muestra control. Puesto que apo B100 representa el número total de partículas potencialmente aterógenas, estamos ante un marcador de riesgo cardiovascular para la muestra de estudio, que sugeriría la inclusión de los mismos en terapia hipolipemiante para tratar de disminuir ese riesgo.

En el caso de la apo A1 no existen diferencia significativa entre la muestra de individuos con Dislipemia Mixta y la muestra control. La apolipoproteína A1 es el principal componente proteico de las HDL y es la responsable del inicio del transporte reverso del colesterol, reflejando la vía ateroprotectora del metabolismo lipídico. Podríamos pensar que al conservar los niveles de apo A1 similares a los del grupo control, no se ha perdido este efecto protector de la apo A1, sin embargo, la reducción del ratio HDL/apo A1 se interpreta como un descenso de la eficiencia del transporte reverso del colesterol desde los tejidos extrahepáticos, lo cual se refleja en la circulación con partículas de HDL pobres en colesterol esterificado. Existen estudios que relacionan el ratio HDL/apo A1 con la enfermedad cardiovascular (88).

En cuanto a las determinaciones realizadas en las fracciones aisladas por ultracentrifugación, se observan cambios significativos con respecto al grupo control en todas ellas, con elevaciones del cVLDL, cLDL (independientemente del método utilizado para su determinación: ya sea por medida en fracción obtenida a través de ultracentrifugación o por cálculo matemático) y disminuciones en cHDL. Todo ello indica que estamos ante paciente con un elevado riesgo cardiovascular en base a su perfil lipoproteico.

5.2. Evaluación de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad obtenido por distintos métodos

El amplio uso en el ámbito clínico de los valores de cLDL obtenidos mediante la ecuación de Friedewald, cuando las concentraciones de triglicéridos son inferiores a 400 mg/dL, requiere evaluar la potencial importancia de las diferencias con los resultados obtenidos mediante la medida en las fracciones obtenidas por ultracentrifugación. Es relevante conocer la influencia de dicha diferencia sobre las decisiones clínicas, y una forma de hacerlo es comparando la clasificación de riesgo que se haría en base a esos dos valores, de acuerdo a los objetivos fijados en las guías de práctica clínica (89). Debido a la limitación de la ecuación de Friedewald para estimar el cLDL en pacientes con

hipertrigliceridemias se ha planteado el uso de otra ecuación, la de Cordova. Para esta ecuación se hace el mismo análisis.

Hemos evaluado los resultados de cLDL que obtenemos para la muestra de estudio (Dislipemia Mixta) mediante dos fórmulas diferentes: Friedewald (ampliamente utilizada en el ámbito clínico siempre que la concentración de triglicéridos sea inferior a 400 mg/dL) y Cordova (que ha demostrado superar varias fórmulas de predicción de cLDL en un amplio rango de colesterol total, cHDL y triglicéridos) (90).

En primer lugar trataremos de ver el comportamiento de los cálculos a evaluar: fórmula de Friedewald y la fórmula de Cordova.

■ Ecuación de Friedewald

Diversos estudios han observado que el cLDL calculado mediante la fórmula de Friedewald está influido por la concentración de triglicéridos, de forma que para concentraciones superiores a 400 mg/dL no es recomendable hacer la estimación. Además se ha referenciado que el cLDL se infraestiman a medida que la concentración de triglicéridos aumenta y esta disminución es mayor cuando las concentraciones de cLDL son menores (76).

Efectivamente en nuestra población el comportamiento es similar, con una infraestimación del 83% de nuestra población. Son objetivables disminuciones de los niveles de cLDL calculados mediante la ecuación de Friedewald a medida que se incrementa la concentración plasmática de triglicéridos (figura 13), particularmente en concentraciones superiores a 300 mg/dL. Esta situación se advierte, especialmente, cuando las concentraciones de cLDL están por debajo de 220 mg/dL (figura 14). Sin embargo, para niveles de cLDL superiores se observa una estimación a la baja del cLDL Friedewald, pero con una dependencia de la concentración de triglicéridos menor.

La ratificación de este hecho nos muestra el porcentaje de individuos que serían reclasificados cuando distribuimos nuestra población por rangos de cLDL. Los rangos establecidos se basan en incrementos de 30 mg/dL a partir de una concentración de cLDL de 160 mg/dL. Los análisis de concordancia muestran que la coincidencia es

mínima para cLDL comprendidos entre 220 y 250 mg/dL, donde tan sólo un 44,7% de los sujetos se clasifican en el mismo grupo atendiendo a que usemos cLDL Friedewald o el obtenido por ultracentrifugación y un 53,2% del cLDL calculado está infraestimado (debido a un mayor porcentaje de individuos con triglicéridos elevados). La máxima concordancia se obtiene para concentraciones de cLDL superiores a 250 mg/dL. La concordancia global de los dos parámetros viene dada por un coeficiente kappa de 0,411, que se interpreta como una concordancia moderada entre las dos variables. La evaluación de la concordancia de los datos en función de los niveles de triglicéridos muestra como la misma disminuye con la concentración plasmática de triglicéridos.

Para tratar de explicar este hecho es necesario tener en cuenta que ya Friedewald en el desarrollo de la fórmula refería una limitación importante en el término que estima la concentración cVLDL. La inexactitud en el cálculo de este término se tolera porque la concentración de cVLDL se supone pequeña en relación con la concentración de cLDL (70).

En nuestro estudio, hemos observado que para concentraciones de cVLDL pequeñas obtenemos diferencias mayores. La representación de cVLDL frente a Tg/5 (figura 18) nos permite observar que la estimación del cVLDL como un cociente de triglicéridos genera una sobreestimación de dicho término, que se traduce en una infravaloración en el cálculo de cLDL, puesto que dicho cociente actúa como sustraendo. Teniendo en cuenta que nuestra muestra se define con individuos hipertrigliceridémicos, el término Tg/5 utilizado para el cálculo será importante en todos los casos y afectará con más fuerza a las muestras con cVLDL menor. Este ratio es variable y en nuestra población oscila alrededor de 8. Parece por tanto, que en la estimación de ese término pudieran influir más variables además de los triglicéridos.

Resumiendo, para bajos niveles de cLDL, particularmente los menores de 220 mg/dL observamos una mayor inexactitud en el cálculo de cLDL Friedewald, obteniendo valores típicamente menores de los medidos en la fracción cLDL ultracentrífuga. Estas diferencias son compatibles con las encontradas entre la estimación de cVLDL como triglicéridos/5 y la medida directa del cVLDL.

Se han propuesto modificaciones a la fórmula de Friedewald (91-93) , que no han sido adoptadas ampliamente, y tales métodos están limitados por la variación en el ratio VLDL:Tg.

■ Ecuación de Cordova

Las limitaciones que plantea la fórmula de Friedewald han generado la propuesta de diversas fórmulas para la estimación de cLDL. Recientemente Cordova et al. han publicado una fórmula que correlaciona fuertemente con medidas directas de cLDL (90).

Hemos evaluado el comportamiento de esta fórmula en nuestra población de estudio, constatando una infravaloración del cLDL calculado para todos los niveles de cLDL (figura 20), que se hace más acusada cuando la concentración de triglicéridos es inferior a 500 mg/dL (figura 21). Por tanto, de nuevo observamos con esta fórmula una infravaloración del cLDL que llega a ser del 86%.

Por tanto podemos concluir que el uso de la ecuación de Cordova infraestimaría cLDL cuando los niveles de triglicéridos son inferiores a 500 mg/dL, mientras que para niveles de triglicéridos superiores haría una infravaloración.

Basados en estos resultados, para valorar el riesgo cardiovascular de los pacientes, sería conveniente tener una evaluación adicional al cLDL. El uso del cLDL estimado con la fórmula de Friedewald (ecuación más ampliamente utilizada) requiere consideración en el cuidado del paciente actual, tanto por parte de los médicos, como de los expertos que formulan las guías clínicas y los investigadores que diseñan futuros proyectos de investigación.

5.3. Valoración del uso de colesterol no HDL y apo B100 como segundos objetivos

Aunque el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) es reconocido ampliamente como la principal lipoproteína aterogénica y el principal objetivo en la terapia hipolipemiante, existen otras especies de lipoproteínas que parecen, no obstante,

estar implicadas en el proceso aterosclerótico. Para su valoración se plantea el uso de las determinaciones del c-noHDL y de apo B100, como alternativas para la medida del riesgo relativo del cLDL (94).

■ Correlación entre cLDL y c-noHDL, apo B100.

Tanto c-noHDL como apo B100 son marcadores de todas las lipoproteínas potencialmente aterogénicas (LDL, IDL y VLDL aterógenas).

Existen estudios que ponen de manifiesto un mayor poder predictivo del c-noHDL frente a cLDL (95, 96), mientras que otros le asignan a apo B100 un mejor poder predictivo de riesgo relativo para enfermedad cardiovascular que cLDL (97, 98). Pese a todo ello, ATP III (*Adult Treatment Panel III*) no recomienda reemplazar cLDL como objetivo primario de la terapia. Estos marcadores se utilizan como objetivos secundarios.

Para evaluar su comportamiento con respecto al cLDL en la población de estudio (pacientes con Dislipemia Mixta) hemos realizado correlaciones con cada uno de los marcadores secundarios. Los resultados obtenidos nos muestran una buena correlación, siendo mejor con c-noHDL que con apo B100, aunque en ambos casos se trata de correlaciones significativas (figura 23, tabla 29). Por tanto, parece adecuado seguir evaluando el uso de c-noHDL y apo B100 como marcadores de riesgo cardiovascular en nuestra población. Igualmente, las diferencias con cLDL podrían indicar una variación en la estimación del riesgo cardiovascular que pudiese complementar la información aportada por el cLDL. En este sentido, es interesante valorar estas magnitudes como marcadores “extras” de riesgo cardiovascular en la población de estudio.

El uso de c-noHDL está especialmente indicado en pacientes con hipertrigliceridemia, de forma que se recomienda su uso como segundo objetivo en pacientes con triglicéridos superiores a 200 mg/dL. En aquellos pacientes para los que la concentración de triglicéridos excede los 500 mg/dL, la consecución de objetivos de c-noHDL es casi imposible (99).

Precisamente nuestra muestra se caracteriza por concentraciones de triglicéridos elevadas (tenemos un rango de trigliceridemia de [178-1949]). La afectación de los niveles de

triglicéridos a la correlación de cLDL con c-noHDL y apo B100 se refleja en el aumento del coeficiente de correlación (Rho de Spearman) cuando se corrige por concentraciones de triglicéridos. Obtenemos en este caso una muy buena correlación entre cLDL y c-noHDL ($\rho=0,900$ vs $\rho=0,774$), y una mejora importante en la correlación con apo B100 ($\rho=0,782$ vs $\rho=0,698$). Cuando estudiamos esta dependencia para rangos concretos de triglicéridos (los establecidos por ATP III (5)) observamos que es a partir de niveles de 500 mg/dL cuando se observa una disminución importante en la correlación entre las variables.

Por tanto, en nuestros pacientes con Dislipemia Mixta, una vez considerados los niveles de triglicéridos de los mismos, y teniendo en cuenta que el grado de equivalencia entre la determinación de cLDL y c-noHDL es alto, podríamos decir que está indicado su uso como marcador secundario de riesgo cardiovascular. El uso de apo B100 en pacientes con triglicéridos inferiores a 500 mg/dL podría aportarnos información adicional.

La paralelismo entre c-noHDL y apo B100 se ha estudiado mediante la correlación de ambas variables. La información que nos aporta este análisis es que para concentraciones de triglicéridos por encima de 500 mg/dL parece que pueden intervenir otras variables en la relación entre c-noHDL y apo B100, que hacen que el ajuste entre ambas sea más grosero. Esto nos sugiere que para esas concentraciones la información que nos aportan los dos marcadores es diferente, y deberíamos estudiar cuál es más indicada para valorar el riesgo cardiovascular en esos casos.

Varios estudios sugieren que la utilidad clínica de los estos marcadores de riesgo parece que únicamente sea consistente en aquellos individuos en los que existan discordancias con el nivel de cLDL. Es por ello que hemos cuantificado las discordancias existentes en nuestra muestra de acuerdo a unas determinadas equivalencias entre las variables cLDL, c-noHDL y apo B100.

■ **Estudio de discordancias entre cLDL (objetivo primario) y c-noHDL, apo B100 (objetivos secundarios).**

Para el estudio de discordancias hemos clasificado los individuos según intervalos de cLDL, c-noHDL y apo B100 (establecidos mediante extrapolación de las recomendaciones de las guías clínicas). Para el cLDL los intervalos se basan en la clasificación de la ATP III (100). Teniendo en cuenta que el rango de cLDL de nuestra muestra es de [133-407] es necesario hacer una extrapolación de los intervalos a partir de 190 mg/dL. Para ello hemos seguido la recomendación de que la amplitud de los intervalos sea de 30 mg/dL.

Tabla 41. Intervalos de cLDL utilizados en el estudio de discordancia.

c-LDL (mg/dL)		Extrapolación: Intervalos de cLDL aplicables a nuestra muestra
< 100	Óptimo	<160
100-129	Casi óptimo	160-189
130-159	Límite alto	190-219
160-189	Alto	220-249
≥ 190	Muy alto	≥ 250

Los intervalos del c-noHDL se han definido en base a las recomendaciones de las guías clínicas que sugieren que los objetivos de c-noHDL se establezcan como (cLDL + 30 mg/dL). De esta forma la extrapolación que hacemos para el c-noHDL es la que sigue:

Tabla 42. Intervalos de c-noHDL usados en el estudio de discordancia.

Extrapolación: Intervalos de c-noHDL aplicables a nuestra muestra
<190
190-219
220-249
250-279
≥ 280

En el caso de la apo B100 el rango de nuestra muestra está comprendido entre [98-384], y los intervalos que se han establecido para el estudio de discordancia son los siguientes:

Tabla 43. Intervalos de apo B100 empleados en el estudio de discordancia.

Extrapolación:
Intervalos de apo B100 aplicables a nuestra muestra
<130
130-149
150-169
170-189
≥ 190

De esta forma, una concentración de cLDL<130 mg/dL se correspondería con un c-noHDL < 190 mg/dL y una apoB100 < 130 mg/dL..., y así sucesivamente (tabla 32).

Se definió discordancia como la situación en que el cLDL clasifica un individuo en un intervalo determinado y el rango de c-noHDL y/o apo B100 en el que se encasilla no es el equivalente que esperaríamos.

Cuando evaluamos la concordancia entre cLDL y c-noHDL observamos que tan sólo un 42% de los pacientes se clasifican en intervalos equivalentes de cLDL y c-noHDL. Cuando hacemos el estudio por niveles de cLDL observamos que la concordancia aumenta a medida que aumenta la concentración de colesterol. Si además hacemos una estratificación por niveles de triglicéridos, notamos una disminución del porcentaje de concordancia a medida que aumenta la concentración de triglicéridos, llegando a tan sólo un 15% de concordancia cuando los triglicéridos plasmáticos son superiores a 500 mg/dL.

Al hacer esta misma valoración con la apo B100 obtenemos resultados similares. Un 49% de los pacientes presentan resultados concordantes entre los intervalos de clasificación por riesgo establecidos para cLDL y apo B100, con un ligero aumento de la concordancia a medida que se incrementan los niveles de cLDL, pero sin sobrepasar un grado de acuerdo débil entre ambos. Cuando estudiamos la concordancia según los niveles de triglicéridos no observamos una dependencia tan fuerte como en el caso del c-noHDL. Para este parámetro la concordancia con cLDL varía entre 52% y 45%, sin una tendencia clara.

Estos datos soportan la idea de que para la mayoría de individuos con niveles concordantes de cLDL y medidas alternativas de LDL (c-noHDL y apo B100), la utilidad clínica de estas medidas es similar. Sin embargo, entre el subgrupo de individuos que presentan una discordancia entre cLDL y las determinaciones alternativas, el riesgo puede ser sobreestimado o infraestimado cuando se usa la determinación de cLDL de forma aislada (94).

5.4. Estimación de los remanentes de colesterol y valoración de su uso como marcadores de riesgo cardiovascular en la Dislipemia Mixta

Los remanentes del colesterol hacen referencia al colesterol contenido en la lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL e IDL en estados de ayuno, y ambas lipoproteínas junto con los quilomicrones en estados de no ayuno) (57). La elevación de los triglicéridos plasmáticos es un indicador de remanentes de colesterol elevados (101), y se asocia con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular (102). Puesto que los triglicéridos per se no es probable que causen enfermedad cardiovascular, es más posible que sean los remanentes de colesterol el factor causal de la misma (103).

En este estudio observamos que el incremento de los niveles de triglicéridos se asocia a un incremento de los niveles de remanentes de colesterol, con una reducción de cHDL, mientras que la asociación de cLDL es menos pronunciada. Y este incremento en los niveles de remanentes de colesterol es mayor en el grupo de pacientes en los que no existe concordancia entre los niveles de cLDL y c-noHDL, al igual que ocurre en los pacientes con discordancia entre cLDL y apo B100. Puesto que el incremento de los remanentes se asocia con un aumento del riesgo cardiovascular podremos decir que nuestros pacientes con discordancias entre niveles de cLDL y c-noHDL o apo B100, van a presentar un mayor riesgo cardiovascular que aquellos en los existe concordancia.

La explicación para esta causa efecto entre la elevación de los remanentes de colesterol y el aumento del riesgo cardiovascular puede ser que los remanentes (lipoproteínas ricas en triglicéridos) entran y quedan atrapados en la íntima de la pared celular. Al igual que las

LDL atrapadas en la íntima, estos pueden conducir a una acumulación de colesterol, desarrollo de aterosclerosis y finalmente enfermedad cardiovascular (102).

CONCLUSIONES

1. En la muestra estudiada se observa una alteración lipídica y lipoproteica asociada a un riesgo cardiovascular elevado, que se caracteriza por la presencia conjunta de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, con concentraciones elevadas de cVLDL y cLDL.
2. Los marcadores secundarios de riesgo cardiovascular, apo B100 y c-noHDL están elevados, y encontramos una disminución del ratio cHDL/apo A1 que se asocia a un descenso de la eficiencia del transporte reverso del colesterol, y por ende, a un aumento del riesgo cardiovascular.
3. La valoración del uso de las fórmulas de Friedewald y Cordova en pacientes con Dislipemia Mixta refleja una infraestimación del cLDL calculado mediante dichas fórmulas, especialmente cuando la concentración de triglicéridos es elevada. Así, la ecuación de Friedewald infravalora el cLDL de un 53% de los pacientes. En el caso de la ecuación de Cordova, la aplicación de la fórmula genera un porcentaje de cLDL inferior al obtenido por ultracentrifugación del 56%.
4. La correlación entre cLDL y c-noHDL, apo B100 es buena, por lo que es adecuado utilizar c-noHDL y apo B100 como marcadores de riesgo. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta correlación empeora, en ambos casos, para triglicéridos superiores a 500 mg/dL. En estos casos, los marcadores secundarios podrían actuar como indicadores de un riesgo residual.
5. Existe un 42% de concordancia entre la determinación de cLDL y c-noHDL. Cuando los niveles de triglicéridos son elevados, la equivalencia entre el cLDL y c-noHDL no se mantiene, de forma que el porcentaje de concordancia entre ambas medidas disminuye considerablemente. Este hecho se traduce en una infra o sobre-estimación del RCV cuando se utiliza únicamente cLDL como marcador de riesgo.

6. Para apo B100 el porcentaje de concordancia con cLDL es del 49%, si bien no se observan variaciones con el nivel de triglicéridos.
7. La determinación simultánea de cLDL, c-noHDL y apo B100 nos proporciona medidas relacionadas (todos ellos están involucrados en el proceso aterogénico), pero distintas, sobre la carga de lípidos aterógenos.
8. El estudio de remanentes de colesterol (lipoproteínas ricas en triglicéridos) en los pacientes con Dislipemia Mixta muestra niveles más elevados en los pacientes que presentan discrepancias entre cLDL y c-noHDL o apo B100. Dado que los remanentes de colesterol se asocian al desarrollo de enfermedad cardiovascular, se refuerza la idea del uso de c-noHDL y apo B100 como marcadores secundarios de riesgo cardiovascular.
9. Introducir como objetivo el descenso del nivel de remanentes de colesterol, c-noHDL o apo B100, en futuras intervenciones en pacientes con Dislipemia Mixta, podría contribuir a una disminución del riesgo residual que presentan algunos de estos individuos.

Bibliografía

1. O'Donnell CJ, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Revista Española de Cardiología*. 2008;61(03):299-310.
2. Gaziano J, Gaziano TA. What's new with measuring cholesterol? *Journal of the American Medical Association*. 2013;310(19):2043-4.
3. Fink G, Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885–1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis*. 1997;135(1):1-7.
4. Steinberg D. Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy: part II: the early evidence linking hypercholesterolemia to coronary disease in humans. *Journal of Lipid Research*. 2005;46(2):179-90.
5. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-.
6. García González JM. Contribuciones de la mortalidad cardiovascular a la esperanza de vida de la población española de 1980 a 2009. *Revista Española de Cardiología*. 2013;66(11):848-53.
7. Bertuccio P, Levi F, Lucchini F, Chatenoud L, Bosetti C, Negri E, et al. Coronary heart disease and cerebrovascular disease mortality in Young adults: recent trends in Europe. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 2011;18(4):627-34.
8. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan L, Ordovas J, Cordón F, et al. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Revista Española de Cardiología*. 2003;56(03):253-61.
9. Brotons C, Moral I, Soriano N, Cuixart L, Osorio D, Bottaro D, et al. Impacto de la utilización de las diferentes tablas SCORE en el cálculo del riesgo cardiovascular. *Revista Española de Cardiología*. 2014;67(02):94-100.
10. Amor AJ, Masana L, Soriguer F, Goday A, Calle-Pascual A, Gatzambide S, et al. Estimación del riesgo cardiovascular en España según la guía europea sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica. *Revista Española de Cardiología*. 2015;68(05):417-25.
11. Sans S, Fitzgerald AP, Royo D, Conroy R, Graham I. Calibración de la tabla SCORE de riesgo cardiovascular para España. *Revista Española de Cardiología*. 2007;60(05):476-85.
12. Graciani A, León-Muñoz LM, Guallar-Castillón P, Rodríguez-Artalejo F, Banegas JR. Cardiovascular Health in a Southern Mediterranean European Country: A Nationwide Population-Based Study. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2013;6(1):90-8.
13. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Diabetologia. 2012;55(1):88-93.
14. Banegas JR, López-García E, Dallongeville J, Guallar E, Halcox JP, Borghi C, et al. Achievement of treatment goals for primary prevention of cardiovascular disease in clinical practice across Europe: the EURIKA study. *European Heart Journal*. 2011;32(17):2143-52.
15. JT D, SA H, HE H, PF F, RF K. A prospective study of cardiovascular disease in Albany: report of three years' experience: ischemic heart disease. *American Journal of Public Health*. 1957;47:25-32.

16. JM C, LS G, W D, DB L, E P. Measuring the risk of coronary heart disease in adult population groups, IV: clinical status of a population group in Los Angeles under observation for two-three years. *American Journal of Public Health*. 1957;47:33-42.
17. TR D, FE M, GV M. Coronary heart disease in the Framingham Study. *American Journal of Public Health*. 1957;47:4-24.
18. Keys A Fau - Taylor HL, Taylor HI Fau - Blackburn H, Blackburn H Fau - Brozek J, Brozek J Fau - Anderson JT, Anderson Jt Fau - Simonson E, Simonson E. Coronary heart disease among Minnesota business and professional men followed 15 years. *Circulation*. 1963;28: 381-95.
19. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. The pooling project research group. *J Chronic Dis*. 1978;31:201-306.
20. TR D, GF M, FEJ M. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *American Journal of Public Health*. 1951;41:279-86.
21. Splansky GL, Corey D Fau - Yang Q, Yang Q Fau - Atwood LD, Atwood Ld Fau - Cupples LA, Cupples La Fau - Benjamin EJ, Benjamin Ej Fau - D'Agostino RB, Sr., et al. The Third Generation Cohort of the National Heart, Lung, and Blood Institute's Framingham Heart Study: design, recruitment, and initial examination. *Am J Epidemiol*. 2007;165:1328-35.
22. Stamler J Fau - Wentworth D, Wentworth D Fau - Neaton JD, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Journal of American Medical Association*. 1986;256:2823-8.
23. Keys A Fau - Menotti A, Menotti A Fau - Aravanis C, Aravanis C Fau - Blackburn H, Blackburn H Fau - Djordevic BS, Djordevic Bs Fau - Buzina R, Buzina R Fau - Dontas AS, et al. The seven countries study: 2,289 deaths in 15 years. *Prev Med*. 1984;13:141-54.
24. Gofman Jw Fau - Young W, Young W Fau - Tandy R, Tandy R. Ischemic heart disease, atherosclerosis, and longevity. *Circulation*. 1966;34:679-97.
25. Kannel Wb Fau - Castelli WP, Castelli Wp Fau - Gordon T, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. *Ann Intern Med*. 1979;90:85-91.
26. Klag MJ, Ford De Fau - Mead LA, Mead La Fau - He J, He J Fau - Whelton PK, Whelton Pk Fau - Liang KY, Liang Ky Fau - Levine DM, et al. Serum cholesterol in young men and subsequent cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1993;328:313-8.
27. Stamler J, Daviglus MI Fau - Garside DB, Garside Db Fau - Dyer AR, Dyer Ar Fau - Greenland P, Greenland P Fau - Neaton JD, Neaton JD. Relationship of baseline serum cholesterol levels in 3 large cohorts of younger men to long-term coronary, cardiovascular, and all-cause mortality and to longevity. *Jounal of American Medical Association*. 2000;284:311-8.
28. Law MR, Wald Nj Fau - Thompson SG, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ*. 1994;308:367-72.
29. Barr Dp Fau - Russ EM, Russ Em Fau - Eder HA, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Am J Med*. 1951;11:480-93.
30. Gordon DJ, Probstfield Jl Fau - Garrison RJ, Garrison Rj Fau - Neaton JD, Neaton Jd Fau - Castelli WP, Castelli Wp Fau - Knoke JD, Knoke Jd Fau - Jacobs DR, Jr., et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Am J Med*. 1951;11:480-93.
31. Sarwar N, Danesh J Fau - Eiriksdottir G, Eiriksdottir G Fau - Sigurdsson G, Sigurdsson G Fau - Wareham N, Wareham N Fau - Bingham S, Bingham S Fau - Boekholdt SM, 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;115:450-8.

32. Kannel Wb Fau - Sorlie P, Sorlie P Fau - Gordon T, Gordon T. Labile hypertension: a faulty concept? The Framingham study. *Circulation*. 1980;61:1183-7.
33. Kannel Wb Fau - Dawber TR, Dawber Tr Fau - McGee DL, McGee DL. Perspectives on systolic hypertension. The Framingham study. *Circulation*. 1980;61: 1179-82.
34. Lewington S Fau - Clarke R, Clarke R Fau - Qizilbash N, Qizilbash N Fau - Peto R, Peto R Fau - Collins R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360:1903-13.
35. Fox CS, Coady S Fau - Sorlie PD, Sorlie Pd Fau - Levy D, Levy D Fau - Meigs JB, Meigs Jb Fau - D'Agostino RB, Sr., D'Agostino Rb Sr Fau - Wilson PWF, et al. Trends in cardiovascular complications of diabetes. *JAMA*. 2004;292:2495-9.
36. Goldschmid MG, Barrett-Connor E Fau - Edelstein SL, Edelstein Sl Fau - Wingard DL, Wingard Dl Fau - Cohn BA, Cohn Ba Fau - Herman WH, Herman WH. Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. *Circulation*. 1994;89:991-7.
37. Kannel Wb Fau - McGee DL, McGee DL. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care*. 1979;2:120-6.
38. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-607.
39. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-52.
40. Kahn R, Buse J Fau - Ferrannini E, Ferrannini E Fau - Stern M, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. (0149-5992 (Print)).
41. JN M, PA.B R, CG R, JW P. Coronary heart disease and physical activity of work. *Lancet*. 1953;2:1053-7.
42. Berlin JA, Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol*. 1990; 132:612-28.
43. Hubert Hb Fau - Feinleib M, Feinleib M Fau - McNamara PM, McNamara Pm Fau - Castelli WP, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983;67:968-77.
44. Wilson PW, D'Agostino Rb Fau - Sullivan L, Sullivan L Fau - Parise H, Parise H Fau - Kannel WB, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002;162:1867-72.
45. Eckel RH, Kahn R Fau - Robertson RM, Robertson Rm Fau - Rizza RA, Rizza RA. Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association. *Circulation*. 2006;113:2943-46.
46. Stamler R Fau - Stamler J, Stamler J Fau - Riedlinger WF, Riedlinger Wf Fau - Algera G, Algera G Fau - Roberts RH, Roberts RH. Weight and blood pressure. Findings in hypertension screening of 1 million Americans. *JAMA*. 1978;240:1607-10.
47. Poirier P Fau - Giles TD, Giles Td Fau - Bray GA, Bray Ga Fau - Hong Y, Hong Y Fau - Stern JS, Stern Js Fau - Pi-Sunyer FX, Pi-Sunyer Fx Fau - Eckel RH, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. (1524-4539 (Electronic)).
48. Baker JL, Olsen Lw Fau - Sorensen TIA, Sorensen TI. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med*. 2007;357:2329-37.

49. Gordon T Fau - Kannel WB, Kannel WB. Premature mortality from coronary heart disease. The Framingham study. *JAMA*. 1971;215:1617-25.
50. De Backer G, Ambrosioni E Fau - Borch-Johnsen K, Borch-Johnsen K Fau - Brotons C, Brotons C Fau - Cifkova R, Cifkova R Fau - Dallongeville J, Dallongeville J Fau - Ebrahim S, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J*. 2003;24: 1601-10.
51. Velasco JA, Cosin J Fau - Maroto JM, Maroto JM Fau - Muniz J, Muniz J Fau - Casasnovas JA, Casasnovas Ja Fau - Plaza I, Plaza I Fau - Abadal LT, et al. [Guidelines of the Spanish Society of Cardiology for cardiovascular disease prevention and cardiac rehabilitation]. *Rev Esp Cardiol*. 2000;53:1095-120.
52. Ballantyne C, Arroll B Fau - Shepherd J, Shepherd J. Lipids and CVD management: towards a global consensus. *Eur Heart J*. 2005;26:2224-31.
53. Comin E, Solanas P Fau - Cabezas C, Cabezas C Fau - Subirana I, Subirana I Fau - Ramos R, Ramos R Fau - Gene-Badia J, Gene-Badia J Fau - Cordon F, et al. [Estimating cardiovascular risk in Spain using different algorithms]. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:693-702.
54. F VÁ, JR BB, JM DC, Artalejo FR. Las enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo en España: hechos y cifras. Informe SEA 2007. In: SEA, editor. 2007.
55. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors. In: Saunders, editor. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6 ed. Missouri: Elservier; 2008. p. 402-30.
56. Errico TL, Chen X, Martin Campos JM, Julve J, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. 2013;25(2):98-103.
57. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *European Heart Journal*. 2011;32(11):1345-61.
58. Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clinical Chemistry*. 1995;41:153-8.
59. Calandra S, Tarugi P, Speedy HE, Dean AF, Bertolini S, Shoulders CC. Mechanisms and genetic determinants regulating sterol absorption, circulating LDL levels, and sterol elimination: implications for classification and disease risk. *Journal of Lipid Research*. 2011;52(11):1885-926.
60. Enriquez L, Matas P. Lipoprotein (a): physio-pathology and clinic and therapeutic considerations. *Medicina Clinica*. 2001;116(19):746-9.
61. Beaumont J, Carlson L, Cooper G, Feifar Z, Fredrickson D, Strasser T. Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinaemias. *Bulletin of the World Health Organisation*. 1970;43:891-915.
62. Standards of Medical Care in Diabetes—2012. *Diabetes Care*. 2012;35(Supplement 1):S11-S63.
63. Catapano AL, Reiner Ž, De Backer G, Graham I, Taskinen M-R, Wiklund O, et al. 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). *Atherosclerosis*. 2011;217(1):3-46.
64. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(25, Part B):2889-934.

65. Civeira F, Ascaso J, Masana L. Should We Forget About Low-Density Lipoprotein Cholesterol? *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(12):1228-9.
66. Anderson TJ, Grégoire J, Hegele RA, Couture P, Mancini GBJ, McPherson R, et al. Are the ACC/AHA Guidelines on the Treatment of Blood Cholesterol a Game Changer? A Perspective From the Canadian Cardiovascular Society Dyslipidemia Panel. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014;30(4):377-80.
67. Contois JH, Warnick GR, Sniderman AD. Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement. *Journal of Clinical Lipidology*. 2011;5(4):264-72.
68. 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. *Canadian Journal of Cardiology*. 2009;25(10):567-79.
69. Anderson TJ, Grégoire J, Hegele RA, Couture P, Mancini GBJ, McPherson R, et al. 2012 Update of the Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Dyslipidemia for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Adult. *Canadian Journal of Cardiology*. 2013;29(2):151-67.
70. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 1972;18(6):499-502.
71. Martínez-Hervas S, Real JT, Priego MA, Carratalá A, Sniderman AD, Carmena R, et al. Establishing cut-off values for apolipoprotein B and non-HDL-C according to LDL-C values in a South European population. *International Journal of Clinical Practice*. 2013;67(1):81-8.
72. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(20):2292-333.
73. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, März W. The Friedewald Formula Underestimates LDL Cholesterol at low Concentrations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2001. p. 426.
74. Sibal L, Neely RDG, Jones A, Home PD. Friedewald equation underestimates low-density lipoprotein cholesterol at low concentrations in young people with and without Type 1 diabetes. *Diabetic Medicine*. 2010;27(1):37-45.
75. Lindsey CC, Graham MR, Johnston TP, Kiroff CG, Freshley A. A Clinical Comparison of Calculated versus Direct Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Level. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2004;24(2):167-72.
76. Ran Jun K, Park H-i, Chun S, Park H, Min W-K. Effects of total cholesterol and triglyceride on the percentage difference between the low-density lipoprotein cholesterol concentration measured directly and calculated using the Friedewald formula. *Clinical Chemical Laboratory Medicine* 2008. p. 371.
77. Olofsson SO, Borén J. Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *Journal of Internal Medicine*. 2005;258(5):395-410.
78. Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ, Schwertfeger G, et al. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *Journal of Lipid Research*. 2000;41(2):305-17.
79. Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R, Cabezas MC, Chapman MJ, Couture P, et al. Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty-person/ten-country panel. *Journal of Internal Medicine*. 2006;259(3):247-58.
80. Sniderman AD, St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, et al. Concordance/Discordance between plasma apolipoprotein B levels and the cholesterol indexes of atherosclerotic risk. *The American Journal of Cardiology*. 2003;91(10):1173-7.

81. Benderly M, Boyko V, Goldbourt U. Apolipoproteins and long-term prognosis in coronary heart disease patients. *The American Heart Journal*. 2009;157(1):103-10.
82. Gomez-Gerique JA, Gutierrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda F, et al. The lipid profile of Spanish population: The DRECE study (Diet and risk of cardiovascular disease in Spain). *Medicina Clinica*. 1999;113(19):730-5.
83. Molecular SEdBCyP, Lipoproteínas CdLy. Protocolo para la estandarización de la fase preanalítica en la medición de lípidos y lipoproteínas. *Química Clínica*. 2004;23(3):137-40.
84. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clinical Chemistry*. 1974;20(4):470-5.
85. Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. *Clinical Chemistry*. 1990;36(9):1605-13.
86. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of Lipid Research*. 1970;11(6):583-95.
87. Rosseneu M, Vercaemst R, Steinberg KK, Cooper GR. Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein B immunoassays. *Clinical Chemistry*. 1983;29(3):427-33.
88. Nikolova BR, Schaab MR, Borges CR, Drachman D, Breburda CS. Circulating HDL/Apolipoprotein A1 des Q243 Ratio Is Significantly Correlated with Coronary Artery Disease and Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Lipidology*. 2012;6(3):253.
89. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Brinton EA, Toth PP, McEvoy JW, et al. Friedewald-Estimated Versus Directly Measured Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Treatment Implications. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(8):732-9.
90. de Cordova CMM, de Cordova MM. A new accurate, simple formula for LDL-cholesterol estimation based on directly measured blood lipids from a large cohort. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2013;50(1):13-9.
91. Gasko R. Low-density lipoprotein cholesterol estimation by a new formula — Confirmation. *International Journal of Cardiology*. 2007;119(2):242-3.
92. Anandaraja S, Narang R, Godeswar R, Laksmy R, Talwar KK. Low-density lipoprotein cholesterol estimation by a new formula in Indian population. *International Journal of Cardiology*. 2005;102(1):117-20.
93. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol: The lipid research clinics prevalence study. *Journal of the American Medical Association*. 1986;256(17):2372-7.
94. Mora S, Buring JE, Ridker PM. Discordance of Low-Density Lipoprotein (LDL) Cholesterol With Alternative LDL-Related Measures and Future Coronary Events. *Circulation*. 2014;129(5):553-61.
95. Cui Y, Blumenthal RS, Flaws JA, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol level as a predictor of cardiovascular disease mortality. *Archives of Internal Medicine*. 2001;161(11):1413-9.
96. Bittner V, Hardison R, Kelsey SF, Weiner BH, Jacobs AK, Sopko G. Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels Predict Five-Year Outcome in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI). *Circulation*. 2002;106(20):2537-42.
97. Sniderman AD. Counterpoint To (measure apo)B or not to (measure apo)B: a critique of modern medical decision-making. *Clinical Chemistry*. 1997;43(8):1310-4.
98. Contois JH, McConnell JP, Sethi AA, Csako G, Devaraj S, Hoefner DM, et al. Apolipoprotein B and Cardiovascular Disease Risk: Position Statement from the AACC Lipoproteins and Vascular Diseases Division Working Group on Best Practices. *Clinical Chemistry*. 2009;55(3):407-19.
99. Grundy SM. Low-Density Lipoprotein, Non-High-Density Lipoprotein, and Apolipoprotein B as Targets of Lipid-Lowering Therapy. *Circulation*. 2002;106(20):2526-9.

100. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. (1524-4539 (Electronic)).
101. Varbo A, Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A, Schnohr P, Jensen GB, Benn M. Nonfasting triglycerides, cholesterol, and ischemic stroke in the general population. *Annals of Neurology*. 2011;69(4):628-34.
102. Varbo A, Benn M, Tybjærg-Hansen A, Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Remnant Cholesterol as a Causal Risk Factor for Ischemic Heart Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(4):427-36.
103. The Emerging Risk Factors C. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *Journal of the American Medical Association*. 2009;302(18):1993-2000.
104. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, et al. Development of approximate formula for LDL-chol, LDL-apo B and LDL-chol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL. *Atherosclerosis*. 1998;138(2):289-99.
105. Ramjee V, Sperling LS, Jacobson TA. Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Versus Apolipoprotein B in Cardiovascular Risk Stratification: Do the Math. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;58(5):457-63.