



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

**ESTUDIO METABÓLICO EN INDIVIDUOS CON  
CONCENTRACIONES EXTREMAS DE COLESTEROL  
TRANSPORTADO POR LIPOPORTEÍNAS DE ALTA  
DENSIDAD.**

**METABOLIC STUDY IN INDIVIDUALS WITH EXTREME  
CONCENTRATIONS OF HIGH-DENSITY LIPOPROTEIN  
CHOLESTEROL.**

**Autora**

Andrea Ortiz Pérez

**Directora**

Dra. Irene Gracia Rubio

**Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza  
Departamento de Anatomía e Histología Humanas**

Curso Académico 2024 - 2025

## **ABREVIATURAS**

<b>ABCA1</b>	Transportador ATP Binding Cassete A1
<b>ABC1G1</b>	Transportador ATP Binding Cassete G1
<b>ABCG5/G8</b>	Transportador ATP Binding Cassete G5/G8
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa
<b>Ala</b>	Alanina
<b>ApoA-I</b>	Apolipoproteína A I
<b>Apo (a)</b>	Apolipoproteína (a)
<b>ApoB</b>	Apolipoproteína B
<b>ApoE</b>	Apolipoproteína E
<b>ApoM</b>	Apolipoproteína M
<b>Apo</b>	Apolipoproteína
<b>Arg</b>	Arginina
<b>Asp</b>	Ácido aspártico
<b>AWHS</b>	Aragón Workers Healthy Study
<b>BCAA</b>	Aminoácidos alifáticos de cadena ramificada
<b>C.HDL L</b>	Colesterol en HDL grande
<b>C.HDL M</b>	Colesterol en HDL mediano
<b>C.HDL S</b>	Colesterol en HDL pequeño
<b>C.HDL XL</b>	Colesterol en HDL extragrande
<b>CT.HDL</b>	Colesterol total en HDL
<b>Cys</b>	Cisteína
<b>d</b>	Densidad
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>EC</b>	Éster de colesterol
<b>ECV</b>	Enfermedades cardiovasculares
<b>FC</b>	Colesterol libre
<b>GGT</b>	Gamma-glutamyl transferasa
<b>Gln</b>	Glutamina
<b>Gly</b>	Glicina
<b>GlycA</b>	Glicoproteína acetilada
<b>GPT</b>	Transaminasa glutámico-pirúvica

<b>Glu</b>	Glutamina
<b>Gluc</b>	Glucosa
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glicosilada
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>HDL.T</b>	Tamaño HDL
<b>HDLc</b>	Colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad
<b>His</b>	Histidina
<b>HTA</b>	Hipertensión
<b>IAM</b>	Infarto agudo de miocardio
<b>IDL</b>	Lipoproteínas de densidad intermedia
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>Ile</b>	Isoleucina
<b>KIV</b>	Kringle IV
<b>KV</b>	Kringle V
<b>LCAT</b>	Lecitin colesterol aciltransferasa
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>LE</b>	Lipasa endotelial
<b>Leu</b>	Leucina
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipasa
<b>Lp(a)</b>	Lipoproteína (a)
<b>Lys</b>	Lisina
<b>Met</b>	Metionina
<b>NPCT1L1</b>	Niemann-Pick C1-like 1
<b>P.HDL L</b>	Partículas de HDL grande
<b>P.HDL M</b>	Partículas de HDL mediana
<b>P.HDL S</b>	Partículas de HDL pequeña
<b>P.HDL XL</b>	Partículas de HDL extragrande
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva
<b>Phe</b>	Fenilalanina
<b>Pro</b>	Prolina
<b>PTEC</b>	Proteína de transferencia de éster de colesterol
<b>PT HDL</b>	Partículas totales de HDL
<b>RCV</b>	Riesgo cardiovascular
<b>RLDL</b>	Receptor LDL
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear

<b>Ser</b>	Serina
<b>SR-BI</b>	Receptor scavenger clase B tipo I
<b>TG</b>	Triglicéridos
<b>TG.HDL</b>	Triglicéridos total en HDL
<b>TG.HDL L</b>	Triglicéridos en HDL grande
<b>TG.HDL M</b>	Triglicéridos en HDL mediana
<b>TG.HDL S</b>	Triglicéridos en HDL pequeña
<b>TG.HDL XL</b>	Triglicéridos en HDL extragrande
<b>Thr</b>	Treonina
<b>Trp</b>	Triptófano
<b>Tyr</b>	Tirosina
<b>Val</b>	Valina
<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad
<b>%.P.HDL L</b>	Porcentaje de HDL grande
<b>%.P.HDL M</b>	Porcentaje de HDL mediana
<b>%.P.HDL S</b>	Porcentaje de HDL pequeña
<b>%.P.HDL XL</b>	Porcentaje de HDL extragrande

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN / ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
2.1. Metabolismo lipídico .....	9
2.1.1 Lípidos .....	9
2.1.2. Lipoproteínas .....	9
2.1.2.1. Quilomicrones .....	10
2.1.2.2. VLDL .....	10
2.2.2.3. IDL .....	11
2.2.2.4. LDL .....	11
2.2.2.5. HDL .....	12
2.2.2.6. Lipoproteína (a) .....	13
2.2. Enfermedades cardiovasculares .....	14
2.2.1. Prevalencia y fisiopatología .....	14
2.2.2. Factores de riesgo .....	14
2.2.2.1. Dislipemias .....	14
2.2.2.2. Hipertensión arterial .....	15
2.2.2.3. Diabetes mellitus .....	16
2.2.2.4. Obesidad y estilo de vida .....	16
2.2.2.5. Factores de inflamación .....	17
2.2.2.6. Otros factores de riesgo: Aminoácidos .....	18
<b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
3.1. Hipótesis .....	20
3.2. Objetivos .....	20
3.2.1. Objetivo general .....	20
3.2.2. Objetivos específicos .....	20
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
4.1. Cohorte del AWHS .....	21
4.2. Selección de sujetos .....	21
4.3. Parámetros clínicos y antropométricos .....	21
4.4. Análisis bioquímico .....	22
4.5. Lipoproteínas, concentración de glicoproteína acetilada (GlycA) y aminoácidos ..	22
4.6. Análisis estadístico .....	22
4.7. Fundamentos éticos .....	23

<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>24</b>
5.1. Características clínicas, bioquímicas y antropométricas .....	24
5.2. Composición y fracciones HDL .....	25
5.3. Marcadores inflamatorios .....	28
5.4. Concentración de aminoácidos .....	28
5.5. Correlaciones de Spearman entre el colesterol transportado por HDL, marcadores inflamatorios y aminoácidos.....	30
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>36</b>

## **1.RESUMEN / ABSTRACT**

Niveles plasmáticos elevados de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDLc) se han descrito como un factor protector frente al riesgo cardiovascular debido a su papel en el transporte reverso de colesterol. Sin embargo, estudios recientes sugieren una relación en forma de “U”, es decir, tanto niveles bajos como muy elevados de HDLc pueden asociarse con un mayor riesgo cardiovascular.

El presente estudio analiza la relación entre las concentraciones extremas de HDLc y factores de riesgo cardiovascular. Se emplearon datos de la cohorte AWHs, con una subcohorte de 741 hombres clasificados en tres grupos según su HDLc: alto (percentil >90, n=62), bajo (percentil <10, n=31) y control (n=648).

Los resultados reflejan que los niveles bajos de HDLc están asociados con un perfil metabólico desfavorable, incluyendo mayor índice de masa corporal (IMC), niveles elevados de triglicéridos y una mayor prevalencia de diabetes mellitus. Además, estos individuos presentan concentraciones significativamente elevadas de biomarcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR) y la glicoproteína acetilada (GlycA), lo que sugiere un estado proinflamatorio crónico, así como concentraciones aumentadas de algunos aminoácidos, compuestos que han sido vinculados con un mayor riesgo cardiovascular en la literatura científica.

Por otro lado, el grupo con HDLc alto mostró un mayor número de partículas HDL, especialmente de tamaño pequeño (HDL-S), que desempeñan un papel crucial en el transporte reverso del colesterol. A pesar de la hipótesis previa de que niveles elevados de HDLc podrían aumentar el riesgo cardiovascular, los resultados sugieren que estos individuos presentan un perfil más favorable, con menor inflamación y una mayor capacidad de eliminación del colesterol.

El estudio sugiere que la funcionalidad y composición de las HDL, junto con las concentraciones de aminoácidos y marcadores inflamatorios, podrían ser factores clave en la evaluación del riesgo cardiovascular.

### **Palabras clave:**

- Concentraciones extremas de colesterol HDL
- Factores de riesgo cardiovascular
- Subclases HDL
- Factores inflamatorios
- Aminoácidos

Elevated plasma levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDLc) have been described as a protective factor against cardiovascular risk due to their role in reverse cholesterol transport. However, recent studies suggest a U-shaped relationship, indicating that both low and very high HDLc levels could be associated with an increased cardiovascular risk.

This study analyses the relationship between extreme HDLc concentrations and cardiovascular risk factors. Data from the AWHs cohort were used, with a subcohort of 741 men classified into three groups based on their HDLc levels: high (percentile >90, n=62), low (percentile <10, n=31), and control.

The results show that low HDLc levels are associated with an unfavorable metabolic profile, including a higher body mass index (BMI), elevated triglyceride levels, and a higher prevalence of diabetes mellitus. Moreover, these individuals exhibit significantly increased concentrations of inflammatory biomarkers such as C-reactive protein (PCR) and glycoprotein acetylation (GlycA), suggesting a chronic pro-inflammatory state. Additionally, elevated concentrations of specific amino acids — biomolecules that have been consistently linked to an increased risk of cardiovascular disease in the scientific literature — were observed.

On the other hand, the high HDLc group exhibit a greater number of HDL particles, particularly small-sized HDL (HDL-S), which play a crucial role in reverse cholesterol transport. Despite the previous hypothesis that high HDLc levels might increase cardiovascular risk, the results indicate that these individuals present a more favorable profile, with lower inflammation and improved cholesterol clearance capacity.

The study suggests that HDL functionality and composition, along with amino acid concentrations and inflammatory markers, could be key factors in assessing cardiovascular risk.

**Key words:**

- Extreme concentrations of HDL cholesterol
- Cardiovascular risk factors
- HDL subclasses
- Inflammatory factors
- Amino acids

## **2.INTRODUCCIÓN**

### **2.1. Metabolismo lipídico**

#### **2.1.1 Lípidos**

Los lípidos desempeñan un papel fundamental en los procesos biológicos y su metabolismo engloba un conjunto de mecanismos de alta relevancia para la fisiología. Por una parte, el colesterol y los fosfolípidos son componentes esenciales de todas las membranas celulares, donde cumplen funciones indispensables para preservar la funcionalidad y la supervivencia de las células. Asimismo, el colesterol actúa como precursor en la producción de hormonas esteroideas, como las suprarrenales, testiculares y ováricas. Por otra parte, los triglicéridos (TG) constituyen una forma de almacenamiento de los ácidos grasos, los cuales sirven como fuente de energía para el organismo. Los TG representan también el componente principal del tejido graso, el cual actúa como reserva energética esencial para sostener la actividad corporal durante los periodos de ayuno.(1)

El colesterol presenta una contradicción interesante, ya que es fundamental para todas las células del organismo. Si estas no reciben colesterol externo a través de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), tienen la capacidad de sintetizarlo a partir del acetato, garantizando así su suministro de colesterol y, por ende, su supervivencia. Sin embargo, un exceso de colesterol, derivado de alteraciones en el metabolismo de los lípidos, puede causar daño aterosclerótico en las arterias. Esto puede conducir al desarrollo de la arteriosclerosis, una enfermedad que se posiciona como la principal causa de mortalidad a nivel mundial. (2,3)

Tanto el colesterol como los TG son insolubles en agua, incluida la sangre, por lo que requieren la necesidad de unirse a proteínas específicas llamadas apolipoproteínas (apo) para que puedan ser transportados. Esta unión da origen a unas estructuras complejas conocidas como lipoproteínas, las cuales tienen un núcleo compuesto por colesterol esterificado y TG, mientras que su capa externa está compuesta por colesterol libre, fosfolípidos y apolipoproteínas, lo que les permite mezclarse y ser solubles en un entorno acuoso.(1)

#### **2.1.2. Lipoproteínas**

El colesterol, en su forma libre o esterificada, junto con los TG, constituyen los principales lípidos presentes en el plasma. Como se ha mencionado previamente, su transporte se realiza con la ayuda de lipoproteínas, estructuras similares a micelas formadas por lípidos y proteínas, donde destacan las apolipoproteínas (4–6) cuya función principal es transportar los lípidos a través de un medio acuoso como es la sangre. Las apo facilitan la solubilización de los lípidos en la sangre.(7)

Las apo se identifican con una combinación de letras y números, y engloban desde la apoA-I hasta la apoM. Las lipoproteínas transportan principalmente lípidos como el colesterol libre, el colesterol esterificado, los TG y los fosfolípidos, que constituyen sus componentes predominantes.(7)

En la estructura de las lipoproteínas destacan dos partes: núcleo y corteza. El núcleo engloba lípidos más hidrófobos como ésteres de colesterol y TG, en cambio, en la corteza se localizan las partes más polares de los fosfolípidos y el colesterol no esterificado. (7)

La clasificación de las lipoproteínas se realiza en función de su densidad que viene dada por su tamaño y por su correlación lípido-proteína. Las lipoproteínas menos densas tienen mayor tamaño y mayor cantidad de lípidos. Jerarquizadas de la más grande a la más pequeña, y, por tanto, de menor a mayor densidad, encontramos: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). (7)

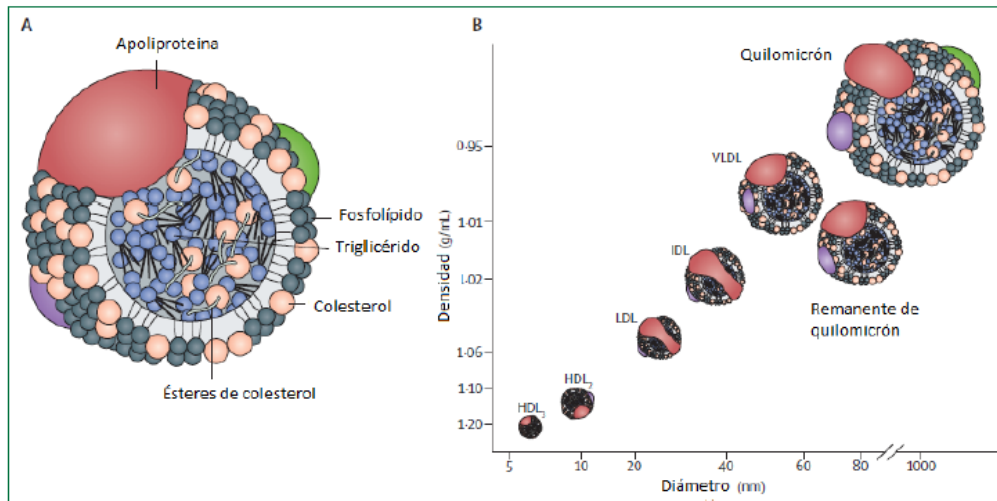


Figura 1. Estructura, densidad y diámetro de las subclases de lipoproteínas (8)

### 2.1.2.1. Quilomicrones

Los quilomicrones son las lipoproteínas más grandes y menos densas (densidad  $(d) < 1,000 \text{g/ml}$ ), con gran cantidad de TG. Las apo de los quilomicrones engloba apoB-48 (indicando que solo se expresa el 48% de la longitud de la apoB-100), apoA-I, apoC-II, apoC-III y apoE. La apoB-48 es esencial para mantener tanto la estructura como la función de los quilomicrones, además de ser un marcador específico de ellos. (7)

La principal función de los quilomicrones es transportar TG en situación postprandial (9) a tejidos que los precisen para su uso, como el tejido muscular o para su almacenamiento como tejido adiposo. (7)

El catabolismo de los quilomicrones requiere de la acción de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) que es activada por la apoC-II. Esta enzima facilita la hidrólisis de los TG de los quilomicrones, liberando así ácidos grasos. Como resultado los quilomicrones se reducen en tamaño y se renombran como quilomicrones remanentes que serán captados por receptores hepáticos que reconocen apoE. (7)

### 2.1.2.2. VLDL

Las VLDL son lipoproteínas de muy baja densidad ( $d < 1,006 \text{g/ml}$ ), grandes y ricas en TG. Su estructura apolipoproteíca es parecida a la de los quilomicrones, excepto que no contiene apoA-I y presentan apoB-100. (7)

La síntesis de VLDL se considera que es atribuible a la captación y el catabolismo por parte del hígado de quilomicrones remanentes. (7)

La principal función de las VLDL es transportar TG principalmente en situaciones de ayuno (8) a tejido muscular y adiposo. El proceso de formación de los ácidos grasos a partir de los TG de VLDL es similar al de los quilomicrones y como resultado las VLDL se vuelven más pequeñas y de mayor densidad. (7)

### **2.2.2.3. IDL**

Las IDL son un grupo minoritario de lipoproteínas de densidad intermedia ( $d < 1,019\text{g/ml}$ ,  $> 1,006\text{g/ml}$ ). Su composición es similar a las VLDL, aunque presentan una proporción menor de TG respecto al colesterol, son también más pequeñas y densas que las VLDL. (7)

La mitad de las IDL se transforman en LDL gracias a la lipasa hepática (LH), mientras que la otra mitad es captada por el hígado. (7)

En determinadas situaciones patológicas, conocidas como disbetalipoproteinemia familiar, pueden acumularse debido a mutaciones genéticas de apoE que provocan una disminución de la afinidad por los receptores apoE hepáticos. (7)

### **2.2.2.4. LDL**

Las LDL (fig.2a) son lipoproteínas de baja densidad ( $d < 0,95\text{g/ml}$   $> 1,063\text{g/ml}$ ). Su apolipoproteína es apoB-100 y están constituidas mayoritariamente por ésteres de colesterol.(7)

Su principal función es transportar colesterol a tejidos periféricos, células e hígado. Las LDL son reconocidos por el receptor LDL (RLDL) situado en la membrana plasmática gracias a la apoB-100 y apoE. (7)

La velocidad de unión de las LDL a sus receptores y su posterior degradación sugiere la presencia de un mecanismo que facilita el transporte de las LDL unidas a los receptores desde la superficie hasta los lisosomas. (10) (fig.2b)

En intervalos determinados, los receptores, contengan o no LDL, son endocitados. En caso de que se haya unido LDL al receptor, las proteínas y lípidos contenidos son hidrolizados para formar aminoácidos y colesterol no esterificado. Respecto al colesterol no esterificado, a concentraciones elevadas resulta tóxico para las células, por lo que se usa en la formación de membranas y hormonas, o se convierte en ésteres de colesterol para que sea almacenado como reservorio celular de colesterol. Determinadas mutaciones en el gen del receptor LDL puede ocasionar altas elevaciones séricas de LDL y como consecuencia hipercolesterolemia. (7)

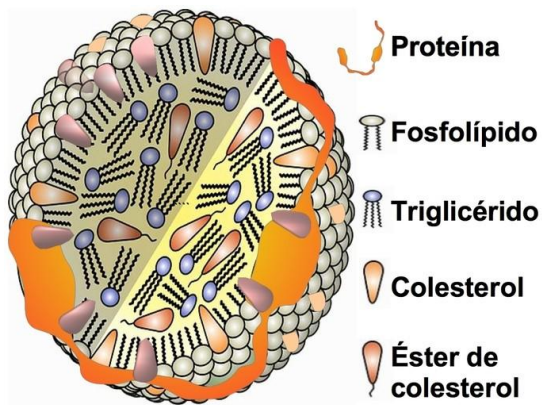


Figura 2a. Estructura lipoproteína LDL (11)

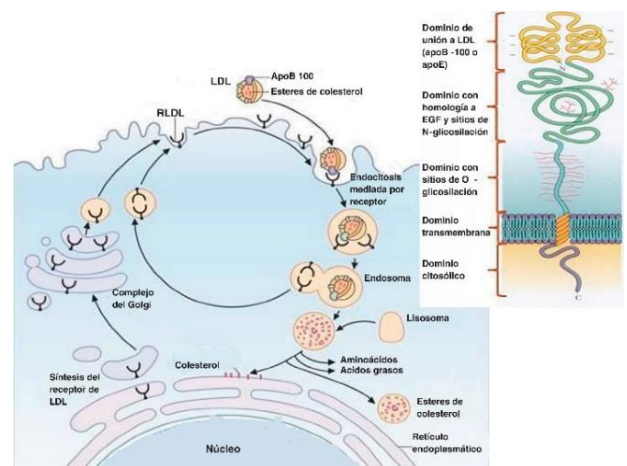


Figura 2b. Ciclo celular del receptor de LDL (7)

### 2.2.2.5. HDL

Las HDL (fig.3a) son las lipoproteínas de alta densidad ( $d < 1,063\text{g/ml} > 1,21\text{g/ml}$ ). La apolipoproteína que constituye su estructura es la apoA-I. La síntesis de HDL está determinada tanto por la apoA-I como del catabolismo de quilomicrones y VLDL, ricas en TG. (7)

La función más destacada de las HDL es el transporte reverso del colesterol. (7) Las HDL captan colesterol procedente de macrófagos cargados de lípidos, participando así en el equilibrio de la cantidad de colesterol de las paredes arteriales y en la disminución de la respuesta proinflamatoria generada por macrófagos cargados de colesterol. (12) (fig.3b)

Tras ello, el HDL cargado de colesterol y gracias a la enzima lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), pasará a ser esterificado. Con el aumento del colesterol esterificado las HDL irán incrementado su tamaño y adquiriendo una forma redondeada hasta que el contenido sea liberado en los hepatocitos gracias a la interacción del receptor scavenger clase B tipo I (SR-BI) y se elimine por heces y bilis, siendo esta la única vía que hasta el momento se conoce para desechar el colesterol de nuestro organismo. (7)

No obstante, recientemente se ha visto que tanto la concentración de HDL pequeñas (HDL-S) como la función que realizan las HDL es más importante que la concentración de HDL en plasma (HDLc). Las HDL que son sintetizadas como apoA-I, al captar pequeñas cantidades de lípidos se convierten en HDL nacientes o HDL-S con gran capacidad de captar colesterol y por tanto funcionales y protectoras. Conforme van cargándose de lípidos empiezan a aumentar de tamaño y a disminuir su capacidad de captación de lípidos disminuyendo su actividad. Así, los últimos estudios sugieren que la concentración de HDLc no es representativa para evaluar el riesgo cardiovascular y por tanto son la composición y el tipo de partículas de HDL los verdaderos predictores del riesgo cardiovascular. (13)

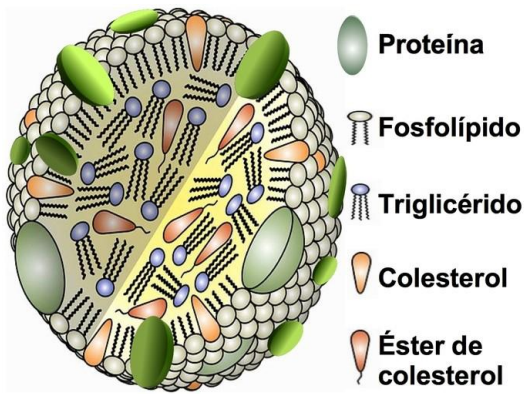


Figura 3a. Estructura lipoproteína HDL (11)

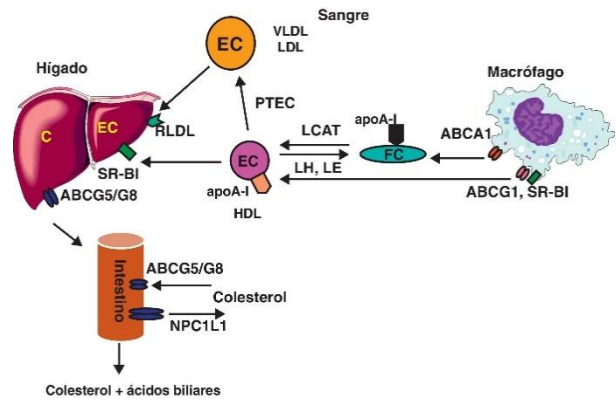


Figura 3b. Transporte reverso de colesterol mediado por HDL (7)

**Abreviaturas anteriormente no descritas y que aplican en la figura 3b:** Transportador ATP Binding Cassete A1 (ABCA1); Transportador ATP Binding Cassete G1 (ABCG1); Transportador ATP Binding Cassete G5/G8 (ABCG5/G8); Éster de colesterol (EC); Colesterol libre (FC); Lipasa endotelial (LE); Niemann-Pick C1-like 1 (NPCT1L1); Proteína de transferencia de éster de colesterol (PTEC).

### 2.2.2.6. Lipoproteína (a)

La lipoproteína (a) (Lp(a)), es una macromolécula esférica con un diámetro de 25 nm y una densidad que varía entre 1,05 y 1,12 g/ml. Su estructura es comparable a la de las LDL, ya que comparte un tamaño similar, una composición lipídica parecida y la presencia de apoB-100. Sin embargo, la principal diferencia entre ambos consiste en que la Lp(a), además de la apoB-100, contiene una segunda proteína, la apolipoproteína (a) (apo(a)). (14)

Si bien se conocen las similitudes estructurales entre Lp(a) y LDL, se desconoce la síntesis y el metabolismo de Lp(a). Lo cierto es que se sabe que es totalmente independiente a las LDL. Diversos estudios han descrito el hígado como principal lugar de síntesis de Lp(a), ya que la síntesis de apo(a) tiene lugar en los hepatocitos y es allí donde se produce su unión con la apoB-100 en la superficie celular. Otra diferencia que cabe destacar con respecto a la LDL radica en que la Lp(a) no proviene del catabolismo de ninguna otra lipoproteína. (14) Tampoco queda claro el proceso de captación de Lp(a), aunque diversos estudios sugieren que se realiza a través de receptores específicos de LDL, pero con menor afinidad. (14)

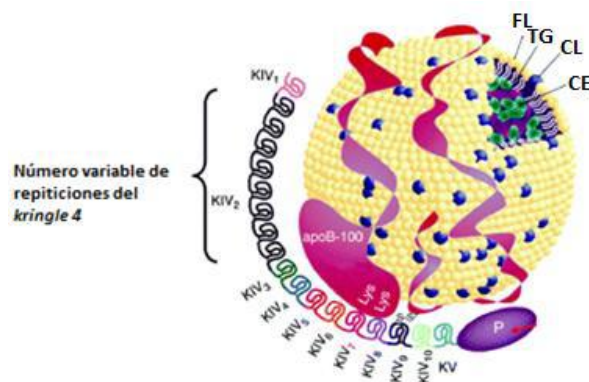


Figura 4. Estructura de la lipoproteína a. (15)

**Abreviaturas anteriormente no descritas y que aplican en la figura 4:** Kringle IV (KIV), Kringle V (KV).

## **2.2. Enfermedades cardiovasculares**

### **2.2.1. Prevalencia y fisiopatología**

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son desde el siglo XXI la principal causa de mortalidad y morbilidad prematuras en todo el mundo. En la actualidad, el 37% de los 16 millones de muertes por enfermedades no transmisibles en personas mayores de 70 años se deben a las ECV, afectando por igual a ambos sexos. Las ECV engloban tanto alteraciones del corazón como de los vasos sanguíneos, clasificándose así: en hipertensión arterial, cardiopatía coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, insuficiencias cardíacas y cardiopatías congénitas. (16)

La probabilidad de sufrir una ECV aumenta con la existencia de determinados factores de riesgo. (16)

### **2.2.2. Factores de riesgo**

El riesgo de sufrir una ECV viene determinado por diversos factores de riesgo. Estos factores de riesgo se clasifican en no modificables, como la edad, el sexo y los antecedentes familiares y modificables, como la dislipemia, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, la obesidad, el estilo de vida, marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR) o la glicoproteína acetilada (GlycA), los aminoácidos y el tabaquismo. (17–20)

Conocer y detectar estos factores de riesgo es esencial para identificar a personas con más probabilidades de desarrollar una ECV, de tal manera que se puedan utilizar estrategias de intervención para abordar factores de riesgo y modificar sus efectos. (17–20)

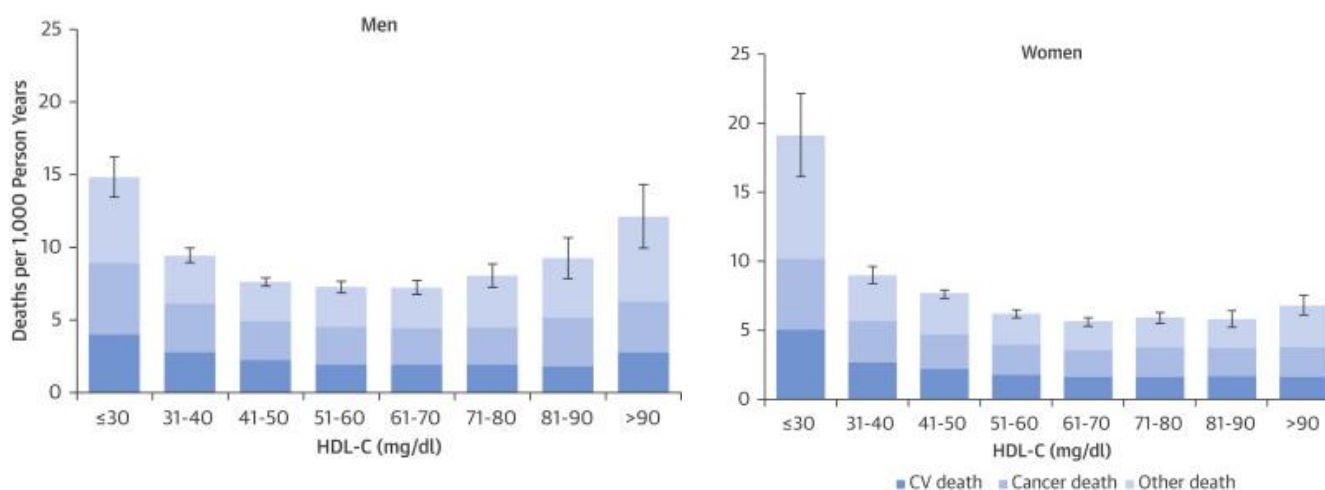
#### **2.2.2.1. Dislipemias**

La dislipemia hace referencia a un conjunto de trastornos metabólicos que provocan una alteración en la concentración de lípidos y lipoproteínas. En sus múltiples formas de manifestación, se relaciona con la aparición de complicaciones cardiovasculares. (21)

Es fundamental resaltar la importancia del colesterol transportado por VLDL, cuando estas pierden TG reducen su tamaño y aumentan su densidad dando lugar a las IDL y finalmente a las LDL. Esta lipoproteína puede ser muy aterogénica ya que tiene la capacidad de atravesar la pared endotelial con facilidad debido a su pequeño tamaño lo que facilita la fagocitación por parte de los macrófagos. Como consecuencia, el colesterol que contienen estas partículas se acumula en la pared vascular (22) favoreciendo la progresión de la enfermedad ateromatosa. Debido a ello, el colesterol LDL es un marcador de riesgo cardiovascular (RCV) ya que representa la cantidad de colesterol disponible para la formación de las lesiones. (23)

Por otra parte, estudios epidemiológicos han demostrado una relación inversa entre el colesterol transportado por las HDL y la enfermedad cardiovascular, de esta forma, el riesgo de padecer una enfermedad aumenta con niveles bajos de HDL. Esta relación es debida al papel que desempeñan las HDL en el transporte reverso del colesterol, movilizándolo desde los tejidos periféricos al hígado para ser excretado en forma de sales biliares. (21)

Sin embargo, recientemente, otros estudios han demostrado que esta asociación no es lineal, sino que sigue un modelo en forma de “U”, ya que valores extremadamente altos de HDL también están relacionados con un aumento de eventos de ECV, lo que sugiere que el papel de las HDL como factor ateroprotector guarda una relación más estrecha con su función que con su concentración. (22, 23) (Figura 5)



**Figura 5. Asociación en forma de “U” del colesterol HDL con la mortalidad por todas las causas y por causas específicas. (26)**

Hay que destacar también la importancia de la Lp(a), debido a su participación en procesos inflamatorios y trombóticos, de ahí que unos niveles elevados en sangre, valores por encima de 50 mg/dL, se asocien a un mayor riesgo cardiovascular. (27)

El estudio FORTIAM demostró que en pacientes que habían sufrido un infarto agudo de miocardio (IAM) con niveles elevados de Lp(a) se asociaban con un peor pronóstico a los 6 meses, independientemente de otros factores de riesgo tradicionales. (28)

A diferencia de las LDL, la Lp(a) se ve poco afectada por la dieta y el estilo de vida, siendo determinada principalmente por la genética, de ahí que no existan amplios tratamientos específicos para reducir sus niveles, aunque, en la actualidad, se han comenzado diferentes ensayos clínicos para desarrollar nuevos fármacos. (27)

### 2.2.2.2. Hipertensión arterial

La hipertensión arterial se define como una presión arterial sistólica mayor o igual a 140 mmHg y/o una presión arterial diastólica mayor o igual a 90 mmHg. El objetivo que se busca es una presión arterial igual o menor a 130/80 mmHg. La medición debe realizarse con el paciente sentado, en ambos brazos con dos determinaciones espaciadas y exigiendo para el diagnóstico dos determinaciones elevadas en días distintos. (29)

La hipertensión representa el principal factor de riesgo para el desarrollo temprano de ECV, debido a su carácter crónico que requiere un seguimiento médico prolongado,

frecuentemente de por vida tras su diagnóstico. Entre las enfermedades cardiovasculares se encuentran: accidentes cerebrovasculares, enfermedades coronarias, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular y enfermedad vascular periférica. (30)

El aumento de las cifras de presión arterial se asocia con un mayor riesgo de enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular, como lo han demostrado numerosos estudios en distintos contextos. Según una investigación, una disminución de 10 a 12 mmHg en la presión sistólica y de 5 a 6 mmHg en la presión diastólica podría reducir el riesgo de accidente cerebrovascular en un 38% y el de enfermedad coronaria en un 16%. (30)

### **2.2.2.3. Diabetes mellitus**

La diabetes mellitus es una alteración metabólica que cursa con una hiperglucemia crónica ya sea por un defecto en la secreción de la insulina (DM1) o en su efecto (DM2). El diagnóstico se realiza tras la determinación de glucosa en plasma y la obtención de dos pruebas alteradas el mismo día o la misma prueba en días diferentes. Estas pruebas son: una hemoglobina glucosilada (HbA1c)  $\geq 6,5\%$ , una glucemia plasmática en ayunas  $\geq 126$  mg/dL, una glucemia plasmática  $\geq 200$  mg/dL a las 2h de una sobrecarga oral de glucosa de 75g o una glucemia  $\geq 200$  mg/dL en un paciente con síntomas de hiperglucemia.(31)

La diabetes incrementa el riesgo cardiovascular y la probabilidad de muerte prematura. Los niveles elevados de glucosa en sangre son el tercer factor de riesgo que más muertes causa en el mundo, solo superado por la hipertensión arterial y el tabaquismo. Esta enfermedad metabólica se caracteriza por una hiperglucemia persistente y, en muchos casos, permanece sin diagnóstico durante años debido a la ausencia de síntomas evidentes. Sin embargo, una vez diagnosticada, el riesgo de complicaciones microvasculares y macrovasculares aumenta considerablemente. (32)

La prevalencia de la DM2 ha crecido notablemente, en gran parte debido al incremento de la obesidad, que a su vez está relacionada con dietas poco saludables y la falta de actividad física. Estos son los principales factores de riesgo modificables para su desarrollo. (32)

Resultados alterados en la glucosa en ayunas, la HbA1c o la prueba de tolerancia a la glucosa de dos horas se asocian con un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, el cual varía entre un 6 % y un 20 %. Un adecuado control glucémico es un objetivo fundamental en el manejo de la diabetes, ya que permite retrasar la aparición y la progresión de complicaciones tanto microvasculares como macrovasculares. (32)

### **2.2.2.4. Obesidad y estilo de vida**

La obesidad se define según las guías en función del índice de masa corporal (IMC). Según el valor del IMC se considera a un sujeto obeso o no, el valor límite a partir del cual se considera obesidad es  $> 30$  Kg/m<sup>2</sup> y está estrechamente relacionada con un estilo de vida sedentario sin la práctica de ejercicio físico y con una mala alimentación. (22)

Tanto la obesidad como el sedentarismo representan factores de riesgo cardiovascular significativos, estrechamente relacionados con diversas enfermedades y complicaciones cardiovasculares. Además, están directamente vinculados con otros factores de riesgo previamente mencionados. (33,34)

La inactividad física tiene un impacto relativo en el riesgo cardiovascular similar al de la hipertensión arterial, la dislipemia y el tabaquismo, lo que explica su asociación con un aumento simultáneo de las ECV. Por otro lado, el ejercicio regular y el manejo adecuado de la obesidad contribuyen a mejorar el perfil lipídico, controlar la glucemia, prevenir o reducir la hipertensión arterial y el estrés, mejorar la condición física y aumentar la expectativa de vida. Las acciones clave para abordar estos factores incluyen la práctica sistemática de actividad física, la reducción o eliminación del consumo excesivo de alcohol, la disminución de la ingesta de sal, la educación nutricional para lograr una dieta equilibrada, la eliminación del tabaquismo y el fomento de la autorresponsabilidad individual, familiar y comunitaria en el cuidado de la salud. (33,34)

Numerosos estudios han demostrado que las intervenciones enfocadas en mejorar los estilos de vida aumentan el conocimiento sobre las enfermedades cardiovasculares y contribuyen a un mejor control de estas. Evaluar los factores de riesgo con mayor impacto en las enfermedades cardiovasculares permite implementar medidas de prevención secundaria y terciaria más personalizadas y eficaces. (33,34)

#### **2.2.2.5. Factores de inflamación**

Los factores de inflamación son moléculas y señales biológicas que el cuerpo produce en respuesta a una lesión, infección o enfermedad, dos de estos factores importantes son la PCR y GlycA.(18)

La PCR es una proteína de origen hepático estimulada por citoquinas proinflamatorias y que se sintetiza como respuesta a la inflamación sistémica. (19)

Existen dos tipos de cuantificación de la PCR: la PCR estándar, que detecta niveles elevados asociados a infecciones o inflamaciones agudas y la PCR ultrasensible, diseñada para medir niveles más bajos que permiten evaluar la inflamación crónica de bajo grado relacionada con el riesgo cardiovascular. En particular, la PCR ultrasensible se ha consolidado como un biomarcador útil en la práctica clínica para identificar y monitorear diversas enfermedades, como resistencia a la insulina, obesidad, apnea del sueño, cáncer y enfermedad cardiovascular. Un estudio reveló una correlación positiva entre el IMC y los niveles de PCR ultrasensible, además de una asociación significativa entre el sexo femenino y niveles más altos de PCR ultrasensible. (19)

Recientemente se ha descubierto un nuevo biomarcador inflamatorio, GlycA, que refleja la concentración total y el grado de glicosilación de varias proteínas que son liberadas en fase aguda de la inflamación, principalmente  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida, haptoglobina y  $\alpha$ -1-antitripsina. Esto sugiere que un nivel elevado de GlycA podría estar vinculado con la activación de procesos inflamatorios sistémicos. (35)

Este biomarcador puede predecir el riesgo futuro de desarrollar DM2 y ECV, de manera independiente a la PCR, y ha demostrado ser especialmente relevante en poblaciones jóvenes. (36) Está relacionado con diversos factores de riesgo cardiovascular asociados al estilo de vida y que ya han sido identificados como riesgo para el desarrollo de ECV. (37)

En los últimos años, diversos estudios han respaldado la importancia de la inflamación como un factor clave en la etiología y la perpetuación del proceso aterosclerótico. (18)

### 2.2.2.6. Otros factores de riesgo: Aminoácidos

Los aminoácidos son favorables por diversas razones entre las que destacan: mantenimiento adecuado de los niveles de proteínas, participación en la liberación de varias hormonas como es la insulina, la hormona del crecimiento o el glucagón. No obstante, una desregulación plasmática de alguno de ellos puede ser un factor de riesgo cardiovascular. (38)

Los aminoácidos se pueden clasificar en no ramificados: alanina (Ala); glutamina (Gln); glicina (Gly); histidina (His); Serina (Ser); treonina (Thr); metionina (Met); cisteína (Cys); ácido aspártico (Asp); ácido glutámico (Glu); lisina (Lys); arginina (Arg) y prolina (Pro), ramificados: isoleucina (Ile); leucina (Leu) y valina (Val) y aromáticos: fenilalanina (Phe); tirosina (Tyr) y triptófano (Trp). En cuanto a los aminoácidos no ramificados, la glicina es el aminoácido más simple. Estudios recientes indican que los niveles elevados de glicina en sangre están relacionados con un perfil lipídico positivo, ya que inhibe la captación celular de VLDL y la biosíntesis de TG, por otro lado, unos niveles bajos de Gly se han visto relacionados con un aumento de la obesidad, la hipercolesterolemia, la hiperglucemia y la aterosclerosis. Además, juega un papel en la eliminación de radicales libres y en la producción de glutatión, un antioxidante esencial. (39) La histidina es otro aminoácido no ramificado, precursor de la histamina, y que desempeña un papel importante en la regulación de la actividad antioxidante mediando la quelación de iones metálicos. Así mismo, bajos niveles de este aminoácido se han visto relacionados con la presencia de síndrome metabólico y la inflamación crónica. (40) La glutamina es el aminoácido que más predomina en la circulación sanguínea y su función consiste en intervenir en procesos de intercambio de nitrógeno, en el metabolismo inmunitario y en la homeostasis del pH. Además, se ha visto involucrada en estados antiinflamatorios y antioxidantes, por ello, niveles bajo de glu se han relacionado con resistencia a la insulina, el cáncer y la enfermedad cardiovascular. (41) En cuanto a la alanina, en un estudio que se llevó a cabo, (42) se demostró que la alanina aminotransferasa (ALT), enzima encargada de formar alanina, se encontraba elevada en niños que padecían obesidad exógena. Así se concluyó que un punto de corte > 44 U/L en mujeres y > 50 U/L en varones de ALT, podría ser un marcador útil en el diagnóstico de síndrome metabólico y para el riesgo cardiovascular en niños con obesidad exógena. (42)

Los aminoácidos alifáticos de cadena ramificada (BCAA) (Ile, Leu y Val) son aminoácidos esenciales que forman la estructura principal de las proteínas del músculo esquelético humano, regulan el metabolismo de la glucosa y ayudan a mantener el buen funcionamiento del cerebro. Varios estudios han demostrado la elevación sérica de estos aminoácidos en enfermedades cardiometabólicas como la diabetes mellitus, la obesidad, ECV e hipertensión (43,44). Se ha visto que estos aminoácidos inducen respuestas pro-inflamatorias así como la producción de mediadores pro-inflamatorios, lo que desencadena mayor capacidad de adhesión endotelial y migración de células inflamatorias causando disfunción endotelial y daño vascular. (44)

En cuanto a los aminoácidos aromáticos (Phe y Tyr), Phe es un aminoácido esencial, mientras que Tyr se puede sintetizar a partir de Phe. Los niveles de fenilalanina están regulados por tetrahidrobiopterina fenilalanina hidroxilasa. Esta enzima provoca la hidroxilación de C4 de la fenilalanina en tirosina, que es un precursor de las catecolaminas. (45) Nuevos estudios sobre la metabolómica humana han revelado una relación entre los niveles de ciertos aminoácidos, el envejecimiento y el riesgo de insuficiencia cardíaca. Se

ha observado que el incremento de fenilalanina con la edad se asocia a esta afección, por lo que se plantea la hipótesis de que dicha elevación contribuye directamente al envejecimiento celular y al deterioro de la función cardíaca, favoreciendo la senescencia y el desarrollo de insuficiencia cardíaca. (45)

### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1. Hipótesis**

Las concentraciones extremas de HDLc (por encima del percentil 90 y por debajo del percentil 10) están asociadas con factores de riesgo cardiovascular, mediado por cambios en la composición y función de las partículas HDL, niveles de inflamación y perfiles de aminoácidos.

#### **3.2. Objetivos**

##### **3.2.1. Objetivo general**

Investigar y analizar la relación de las concentraciones extremas de HDLc (por encima del percentil 90 y por debajo del 10) con factores de riesgo cardiovascular.

##### **3.2.2. Objetivos específicos**

Evaluar si la concentración de HDL influye en:

- La concentración de los diferentes subtipos de partículas HDL (S, M, L, XL) y su composición (TG y colesterol).
- En la concentración de marcadores inflamatorios: PCR y GlycA
- En la concentración de aminoácidos no ramificados (alanina, glutamina, glicina y histidina), ramificados (isoleucina, leucina y valina) y aromáticos (fenilalanina y tirosina).

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. Cohorte del AWHs

La cohorte AWHs (Aragón Workers Healthy Study) es un estudio prospectivo que se fundamenta en los reconocimientos médicos realizados a 5.965 trabajadores de una fábrica de automóviles en Figueruelas (Zaragoza, España), sin antecedentes de enfermedad cardiovascular. En 2009 comenzó el reclutamiento de participantes, recopilando una amplia variedad de datos, como actividad física, alimentación, factores de riesgo cardiometabólico, antecedentes médicos, medidas antropométricas y análisis bioquímicos. Desde el inicio del estudio y cada tres años, se toman muestras de sangre de los participantes de las que se obtiene y almacena ADN, suero y plasma a -80 °C en el Biobanco del Sistema de Salud de Aragón. (46)

### 4.2. Selección de sujetos

Los sujetos a estudio provienen de una subcohorte en la que se realizaron análisis metabolómicos en plasma (788 sujetos) dentro de la cohorte previamente mencionada, AWHs (5.965 sujetos). Estos sujetos fueron clasificados en función de sus valores de colesterol transportado por HDL (HDLc), dado que la concentración de HDLc es dependiente del sexo y el porcentaje de mujeres en la cohorte del AWHs es aproximadamente del 6%, se seleccionaron exclusivamente hombres (n= 741). Así, como se ha comentado previamente, estos sujetos se dividieron en función de sus valores de HDLc: HDLc alto, por encima del percentil 90 (n = 62); HDLc bajo que incluye a los sujetos con HDLc por debajo del percentil 10 (n = 31) y el grupo control (n = 648) ajustado por edad, siguiendo los valores del estudio DRECE (Tabla 1). (47)

**Tabla 1.** Percentiles de la concentración de colesterol de HDLc de la población española, por sexo y grupos de edad (valores en mg/dL). (47)

	Percentil 5	Percentil 10	Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75	Percentil 90	Percentil 95
Varones (edad en años)							
5-12	40	44	53	61	70	79	83
13-19	35	37	43	50	58	64	69
20-29	33	36	41	48	56	64	70
30-29	32	34	39	46	54	64	70
40-49	31	33	39	46	56	65	70
50-59	31	35	41	50	60	70	78

### 4.3. Parámetros clínicos y antropométricos

Recogiendo los datos de altura y peso de los sujetos seleccionados se calculó el IMC dividiendo el peso entre la altura al cuadrado, expresado en kg/m<sup>2</sup>. Además, se registró el sexo de cada sujeto y si presentaban un diagnóstico previo de hipertensión o diabetes.

#### **4.4. Análisis bioquímico**

Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Miguel Servet. Se tomaron muestras de sangre de los pacientes en tubos con EDTA tras un ayuno nocturno.

Para su análisis, el plasma fue separado mediante centrifugación. Las concentraciones de TG y colesterol total se midieron mediante ensayos enzimático-colorimétricos estandarizados. Los niveles de HDLc se determinaron tras precipitar las demás lipoproteínas con sulfato de dextrano y cloruro de magnesio, mientras que la concentración de LDLc se calculó utilizando la fórmula de Friedewald si la concentración de TG era inferior a 400 mg/dL.

Mediante inmunonefelometría se analizaron las apolipoproteínas AI y B, y la Lp(a) se determinó mediante inmunoturbidimetría. Para medir las actividades enzimáticas de la gamma-glutamyl transferasa (GGT) y la transaminasa glutámico-pirúvica (GPT) se realizaron ensayos fotométricos estandarizados. La glucosa en sangre se analizó con ensayos enzimático-colorimétricos, y la HbA1c se midió mediante un ensayo inmunoturbidimétrico.

Por otro lado, los niveles de PCR se determinaron mediante inmunoturbidimetría mejorada con partículas de látex.

#### **4.5. Lipoproteínas, concentración de glicoproteína acetilada (GlycA) y aminoácidos**

Las subclases de lipoproteínas HDL, GlycA y aminoácidos se analizaron mediante metabolómica por resonancia magnética nuclear (RMN) de alta capacidad (Nightingale Health Ltd., Helsinki, Finlandia) en muestras de suero. Esta técnica permite medir simultáneamente los lípidos y realizar un perfil detallado de las subclases de lipoproteínas, determinando las concentraciones lipídicas en 14 subgrupos. Los procedimientos experimentales y aplicaciones de esta plataforma de metabolómica por RMN han sido descritos en estudios previos. (48,49)

En este análisis, en cuanto a la lipoproteína HDL, se evaluaron las subclases de lipoproteína HDL y su tamaño (S, M, L y XL), el porcentaje en tamaño de las partículas de HDL y las concentraciones de colesterol y triglicéridos de las distintas subfracciones de HDL (mmol/L).

Por otro lado, también, mediante metabolómica por RMN de alta capacidad, se determinaron los niveles de distintos aminoácidos, dividiendo estos en no ramificados (Ala, Gly, His y Gln), ramificados (Leu, Ile y Val) y aromáticos (Phe y Tyr).

#### **4.6. Análisis estadístico**

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa R Studio (versión 3.4.4), considerando como estadísticamente significativos los valores de  $p < 0,05$ . Se analizaron los datos clínicos y antropométricos de los pacientes en relación con los niveles de HDL, calculando el p - valor. Para las variables cualitativas (hipertensión y diabetes), se determinó el número y porcentaje de individuos con la característica correspondiente, y se calculó el p-valor mediante la prueba chi cuadrado de Pearson. En cuanto a las variables

cuantitativas, primero se realizó la prueba estadística Shapiro-Wilk test para verificar si la distribución era paramétrica o no.

Para las variables paramétricas (colesterol LDL), se calcularon la media y la desviación estándar, y el p - valor se obtuvo a partir de la prueba ANOVA. Para las variables no paramétricas (edad, IMC, colesterol total, colesterol HDL, TG, glucosa, HbA1c, GGT, GPT, apoA-I, apoB y Lp (a), PCR, GlycA, aminoácidos, partículas totales de HDL, tamaño de HDL y de los distintos tamaños de HDL: el número de partículas, el porcentaje y la cantidad total de TG y de colesterol), se determinó la mediana y los percentiles 25 y 75, y se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para obtener el p-valor. En las variables que aplicaba, se realizó un análisis post hoc de Bonferroni para determinar entre qué grupos había diferencias significativas.

Se evaluó la correlación entre las concentraciones de colesterol transportado por HDL, marcadores inflamatorios y aminoácidos utilizando el coeficiente de correlación de Spearman ya que las variables siguen una distribución no paramétrica. La correlación de Spearman se calculó para cada par de variables, y los p-valores fueron obtenidos para evaluar la significancia estadística.

#### **4.7. Fundamentos éticos**

Este proyecto de investigación se fundamenta en principios éticos esenciales que aseguran el respeto y la protección de las personas que participan en el estudio. Para ello, se garantiza el cumplimiento de las normas recogidas en la Declaración de Helsinki, un documento clave que orienta la investigación médica con seres humanos desde una perspectiva ética.

Asimismo, el estudio ha sido evaluado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA), lo que demuestra que se han tenido en cuenta y cumplido las normativas éticas y legales correspondientes. Esta aprobación garantiza que el desarrollo del estudio respete los derechos y la seguridad de los participantes. Todos los participantes han sido debidamente informados acerca del propósito del estudio, los procedimientos implicados, así como los posibles riesgos y beneficios. Además, han otorgado su consentimiento informado por escrito, lo que evidencia que aceptan participar de manera libre y consciente.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características clínicas, bioquímicas y antropométricas

El análisis estadístico de los diferentes parámetros estudiados, realizado en función de los niveles de HDLc en los tres grupos, permite establecer diferencias significativas. (Tabla 2).

En cuanto a las características bioquímicas, clínicas y antropométricas analizadas, tanto la edad como el antecedente de HTA son similares entre los tres grupos, lo que permite concluir que no existen diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, en cuanto al IMC, se observan diferencias significativas. El análisis post hoc revela un aumento significativamente superior en el grupo con HDLc bajo en comparación al grupo con HDLc alto. Por otro lado, el análisis de la incidencia de diabetes muestra diferencias significativas. En este sentido, el análisis post hoc indica que la incidencia de diabetes es significativamente superior en el grupo HDLc bajo con respecto a los otros dos grupos.

Los análisis bioquímicos reflejan que no hay diferencias significativas entre los tres grupos en los niveles de Lp(a), GGT, GPT y glucosa. Sin embargo, muestran diferencias estadísticamente significativas en colesterol total, TG, apoA-I, apoB, HbA1C, HDLc, por lo que se realizaron los correspondientes análisis post hoc en estas variables.

En cuanto al colesterol total, su concentración es más elevada en el grupo HDLc alto, seguido del grupo HDLc normal y, por último, del HDLc bajo. Las diferencias son estadísticamente significativas al comparar el grupo HDLc bajo con HDLc normal, así como con el grupo HDLc alto.

Los valores de TG son significativamente mayores en el grupo HDLc bajo con respecto a los otros dos grupos. El LDL es significativamente mayor en el grupo HDLc normal cuando se compara con el grupo HDLc bajo, de igual manera es significativamente mayor en el grupo HDLc alto con respecto al grupo HDLc bajo, sin haber diferencias entre el grupo HDLc normal y HDLc alto.

La apoA-I es significativamente mayor en el grupo HDLc alto en comparación a los otros dos grupos, mientras que la apo B es solo significativamente mayor en el grupo control con respecto al grupo HDLc alto.

La HbA1c es significativamente mayor en el grupo control cuando se compara con el grupo HDLc alto, de igual manera es significativamente superior en el grupo HDLc bajo cuando se compara con el grupo HDLc alto, no obstante, los valores más elevados de HbA1c se observan en el grupo HDLc bajo.

Finalmente, cabe destacar, que la concentración de HDL es significativamente mayor en el grupo HDLc alto con respecto a los otros dos grupos.

**Tabla 2.** Características, bioquímicas, clínicas y antropométricas en función de los niveles de HDL.

	<b>HDL bajo, n = 31</b>	<b>HDL control, n = 648</b>	<b>HDL alto, n = 62</b>	<b>p1</b>	<b>p2</b>	<b>p3</b>	<b>p4</b>
<b>Edad, años</b>	52 [50-55]	51 [46-55]	51 [42,50-55,75]	0,603	N.A	N.A	N.A
<b>IMC, kg/m<sup>2</sup></b>	27,10 [26,13-29,34]	27,43[25,75-29,72]	25,50 [24,22-28,14]	<0,001	1	<0,001	0,031
<b>TG, mg/dL</b>	207 [146-333]	128 [89-181,75]	80,5 [64,5-113]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>CT, mg/dL</b>	187 [169-199]	213 [187-235]	217,5 [184-247]	<0,001	<0,001	0,742	0,002
<b>HDL, mg/dL</b>	33 [32-34]	50 [45-56]	74 [70-80,75]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>LDL, mg/dL</b>	105,69±32,84	132,26±30,98	127,2±37,91	0,026	<0,001	0,453	0,011
<b>ApoA-I, mg/dL</b>	113 [108-116]	140 [130,75-148]	172,5 [162-188,75]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>ApoB, mg/dL</b>	100 [87-109]	105 [90-122,25]	92 [73,75-115,75]	0,014	0,882	0,018	0,673
<b>Lp(a), mg/dL</b>	13,5 [5-24]	20 [9-43,75]	17 [9-35]	0,342	N.A	N.A	N.A
<b>GGT, UI/L</b>	36 [27-48]	35 [20-33]	32 [26-44]	0,442	N.A	N.A	N.A
<b>GPT, UI/L</b>	24 [18-30]	25,5 [20-33]	20,5 [18-32]	0,081	N.A	N.A	N.A
<b>Gluc, mg/dL</b>	92 [88-117]	96 [88,75-105]	96 [88,5-101]	0,592	N.A	N.A	N.A
<b>HbA1c, %</b>	5,5 [5,4-6,25]	5,4 [5,3-5,6]	5,3 [5,20-5,40]	0,005	0,123	0,044	0,007
<b>HTA, n (%)</b>	21 (70%)	364 (61%)	31 (54,3%)	0,342	N.A	N.A	N.A
<b>DM, n (%)</b>	7 (22,5%)	46 (7,7%)	1 (1,75%)	0,002	0,031	0,332	0,007

Apolipoproteína A I (ApoA-I); Apolipoproteína B (ApoB); Colesterol total (CT); Diabetes mellitus (DM); Glucosa (Gluc); Gamma-glutamyl transferasa (GGT); Hemoglobina glicosilada (HbA1c); Hipertensión arterial (HTA); Lipoproteína (a) (Lp(a)); Transaminasa glutámico-pirúvica (GPT); Triglicéridos (TG); No aplica (N.A)

p1: el p-valor corresponde a las diferencias globales entre los grupos según la concentración de HDL, calculado mediante ANOVA o prueba de Kruskal-Wallis, según la distribución de las variables, paramétricas y no paramétricas, respectivamente.

p2, p3, p4: Comparaciones post hoc ajustadas por Bonferroni para corrección por comparaciones múltiples. p2: HDL Control vs. HDL bajo; p3: HDL Control vs. HDL alto; p4: HDL bajo vs. HDL alto.

Las variables cuantitativas con distribución normal están expresadas como media ± desviación estándar, mientras que las variables cuantitativas con distribución no normal están expresadas como mediana [rango intercuartílico]. El p-valor se calculó con los test ANOVA o Kruskal Wallis respectivamente, realizando el correspondiente análisis post hoc Bonferroni si aplicaba. Las variables cualitativas están expresadas como porcentajes y la p se calculó con la prueba de Chi-cuadrado.

## 5.2. Composición y fracciones HDL

El análisis estadístico de la composición y fracciones de HDL según los niveles extremos de HDLc (Tabla 3) muestra diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto al tamaño de las partículas HDL y la cantidad de partículas totales de HDL, ambos son estadísticamente superiores en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos. Respecto al colesterol total de las partículas HDLc, este es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos. En cuanto a los TG totales de las partículas HDLc, los TG son superiores en el grupo

HDLc bajo, seguido del HDLc normal y HDLc alto, sin embargo, estas diferencias son significativas al comparar el grupo HDLc bajo con el grupo control, así como con el grupo HDLc alto.

Las partículas de HDL se dividieron según su tamaño en XL, L, M y S, de las cuales se determinó el número de cada partícula, así como su porcentaje y la cantidad total de colesterol y TG en cada una de ellas.

En cuanto a las HDL XL, el número de partículas es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos. Sin embargo, el porcentaje de partículas solo es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con el grupo control, así como con HDLc bajo. Respecto a la cantidad de colesterol, es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos. Sin embargo, la cantidad de TG es solo significativamente superior en el grupo HDLc bajo en comparación con el grupo control.

Respecto a las HDL L, tanto el número de partículas como el porcentaje son significativamente superiores en el grupo HDLc alto en comparación con los otros 2 grupos. En cuanto a la cantidad de colesterol y de TG, ambos son significativamente superiores en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos.

En cuanto a las partículas HDL M, la cantidad y el porcentaje son significativamente superiores en el grupo HDLc alto. Respecto a la cantidad de colesterol, es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos grupos. Siendo los TG superiores en el grupo HDLc bajo seguido del grupo control, pero solo estadísticamente significativo cuando se compara el grupo control con HDLc alto o el grupo HDLc bajo con el grupo HDLc alto.

Finalmente, en cuanto a las HDL S, el porcentaje es significativamente superior en el grupo HDLc bajo con respecto a los otros dos grupos. No obstante, la cantidad de partículas es superior en el grupo HDLc alto, seguido de HDLc normal y HDLc bajo, sin embargo, estas diferencias son significativas al comparar el grupo HDLc bajo con el grupo control, así como con el grupo HDLc alto. Así mismo, el colesterol es significativamente superior en el grupo HDLc alto en comparación con los otros dos. Y los TG son significativamente superiores en el grupo HDLc bajo en comparación con el grupo control y el grupo HDLc alto.

**Tabla 3.** Composición y fracciones de HDL según los niveles extremos de HDLc.

	<b>HDL bajo, n = 31</b>	<b>HDL normal, n = 648</b>	<b>HDL alto, n = 62</b>	<b>p1</b>	<b>p2</b>	<b>p3</b>	<b>p4</b>
<b>HDLT, nm</b>	9,60 [9,55-9,76]	9,82 [9,72- 9,93]	10,17 [10,06-10,26]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT HDL, mol/l</b>	6,29e-06 [6,01e-06 – 6,61e-06]	7,72e-06 [7,22e-06- 8,22e-06]	9,34e-06 [8,71e-06- 9,86e-06]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>P.HDL XL, mol/l</b>	2,96e-07 [2,37e-07- 3,79e-07]	3,69e-07 [3,06e-07- 4,38e-07]	6,16e-07 [5,37e-07- 6,88e-07]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>P.HDL L, mol/l</b>	4,25e-07 [2,78e-07- 5,70e-07]	7,94e-07 [7,94e-07- 9,90e-07]	1,52e-06 [1,44e-06- 1,71e-06]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>P.HDL M, mol/l</b>	1,31e-06 [1,22e-06- 1,42e-06]	1,76e-06 [1,58e-06- 1,92e-06]	2,20e-06 [1,95e-06- 2,41e-06]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>P.HDL S, mol/l</b>	4,33 e-06 [4,05e-06- 4,49e-06]	4,75e-06 [4,49e-06- 5,00e-06]	4,93e-06 [4,55e-06- 5,26e-06]	<0,001	<0,001	0,092	<0,001
<b>%P.HDL XL</b>	4,91 [3,57- 5,68]	4,76 [4,00-5,67]	6,73 [5,76-7,768]	<0,001	1	<0,001	<0,001
<b>%P.HDL L</b>	6,62 [4,52-8,92]	10,26 [8,53-12,3]	16,73 [15,06-18,77]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>%P.HDL M</b>	20,83 [19,92-21,61]	22,84 [21-23]	23,60 [22,51 24,42]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>%P.HDL S</b>	68,35 [63,78-70,39]	62,08 [58,97-64,81]	52,91 [50,70-54,85]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>CT.HDL, mmol/L</b>	0,88 [0,78-0,92]	1,20 [1,09-1,35]	1,73 [1,58-1,85]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>C.HDL XL, mmol/L</b>	0,15 [0,11-0,22]	0,18 [0,15-0,22]	0,29 [0,26-0,33]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>C.HDL L, mmol/L</b>	0,10 [0,06-0,16]	0,21 [0,15-0,28]	0,46 [0,42-0,53]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>C.HDL M, mmol/L</b>	0,23 [0,20-0,26]	0,34 [0,30-0,56]	0,47 [0,40-0,51]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>C.HDL S, mmol/L</b>	0,37 [0,29-0,42]	0,46 [0,41-0,50]	0,48 [0,42-0,53]	<0,001	<0,001	0,003	<0,001
<b>TG.HDL, mmol/L</b>	0,16 [0,13-0,21]	0,14 [0,01-0,17]	0,12 [0,11-0,16]	0,004	0,035	0,113	0,004
<b>TG.HDL XL, mmol/L</b>	0,01 [0,01-0,03]	0,01 [0,01-0,02]	0,014 [0,012-0,02]	0,011	0,024	0,362	0,242
<b>TG.HDL L, mmol/L</b>	0,021 [0,011- 0,031]	0,026 [0,012-0,032]	0,03 [0,02-0,04]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>TG.HDL M, mmol/L</b>	0,0498 [0,04- 0,06]	0,049 [0,04- 0,06]	0,04 [0,03-0,04]	<0,001	1	<0,001	0,007
<b>TG.HDL S, mmol/L</b>	0,06 [0,05 0,08]	0,05 [0,04-0,06]	0,04 [0,04-0,05]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Colesterol en HDL grande (C.HDL L); Colesterol en HDL mediano (C.HDL M); Colesterol en HDL pequeño (C.HDL S); Colesterol en HDL extragrande (C.HDL XL); Colesterol total en HDL (CT.HDL); Tamaño HDL (HDL.T); Partículas de HDL grande (P.HDL L); Partículas de HDL mediano (P.HDL M); Partículas de HDL pequeño (P.HDL S); Partículas de HDL extragrande (P.HDL XL); Partículas totales de HDL (PT.HDL); TG total en HDL (TG.HDL); TG en HDL grande (TG.HDL L); TG en HDL mediano (TG.HDL M); TG en HDL pequeño (TG.HDL S); TG en HDL extragrande (TG.HDL XL); % de HDL grande (%.P.HDL L); % de HDL mediano (%.P.HDL M); % de HDL pequeño (%.P.HDL S); % de HDL extragrande (%.P.HDL XL).

p1: el p-valor corresponde a las diferencias globales entre los grupos según la concentración de HDL, calculado mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

p2, p3, p4: Comparaciones post hoc ajustadas por Bonferroni para corrección por comparaciones múltiples. p2: HDL Control vs. HDL bajo; p3: HDL Control vs. HDL alto; p4: HDL bajo vs. HDL alto.

Las variables cuantitativas con distribución no normal están expresadas como mediana [rango intercuartílico]. El p-valor se calculó con el test Kruskal Wallis, realizando el correspondiente análisis post hoc Bonferroni si aplicaba.

### 5.3. Marcadores inflamatorios

El análisis estadístico de los marcadores inflamatorios GlycA y PCR (Tabla 4) permite establecer diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a la GlycA, el análisis post hoc revela un aumento significativamente superior en el grupo con HDLc bajo en comparación a los grupos con HDLc alto y el grupo control. Sin embargo, en cuanto a la PCR, estas diferencias son significativas al comparar el grupo HDLc bajo con HDLc normal, así como con el grupo HDLc alto.

**Tabla 4.** Marcadores inflamatorios según niveles extremos de HDLc.

	<b>HDL bajo, n = 31</b>	<b>HDL normal, n = 648</b>	<b>HDL alto, n = 62</b>	<b>p1</b>	<b>p2</b>	<b>p3</b>	<b>p4</b>
<b>GlycA, mmol/L</b>	1,64[1,54-1,89]	1,40[1,28-1,56]	1,28[1,18-1,36]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PCR, mg/L</b>	0,43[0,20-0,60]	0,24[0,10-0,33]	0,12[0,10-0,30]	0,009	0,032	0,291	0,022

Glicoproteína acetilada (GlycA); Proteína C reactiva (PCR).

p1: el p-valor corresponde a las diferencias globales entre los grupos según la concentración de HDL, calculado mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

p2, p3, p4: Comparaciones post hoc ajustadas por Bonferroni para corrección por comparaciones múltiples. p2: HDL Control vs. HDL bajo; p3: HDL Control vs. HDL alto; p4: HDL bajo vs. HDL alto

Las variables cuantitativas con distribución no normal están expresadas como mediana [rango intercuartílico]. El p-valor se calculó con el test Kruskal Wallis, realizando el correspondiente análisis post hoc Bonferroni si aplicaba.

### 5.4. Concentración de aminoácidos

Los aminoácidos analizados se dividieron en no ramificados, ramificados y aromáticos. (Tabla 5) En cuanto a los no ramificados, el análisis de la alanina revela diferencias estadísticamente significativas. Tras el análisis post hoc, la concentración de alanina es significativamente mayor en el grupo control cuando se compara con el grupo HDLc alto, de igual manera es significativamente superior en el grupo HDLc bajo cuando se compara

con el grupo HDLc alto. No se encontraron diferencias significativas en el resto de los aminoácidos no ramificados.

Por otro lado, en cuanto a los aminoácidos de cadena ramificada, tanto la isoleucina como la leucina y la valina muestran diferencias estadísticamente significativas. La isoleucina y la leucina son estadísticamente superiores en el grupo HDLc bajo en comparación a los grupos con HDLc alto y el grupo control. Sin embargo, en la valina, estas diferencias son significativas al comparar el grupo HDLc bajo con HDLc normal, así como con el grupo HDLc alto.

Finalmente, en relación con los aminoácidos aromáticos solo se han visto diferencias estadísticamente significativas en la fenilalanina. Tras el análisis post hoc, se determinó que solo era significativamente superior en el grupo HDLc bajo en comparación con el grupo HDLc alto.

**Tabla 5.** Aminoácidos según niveles extremos de HDLc.

	HDL bajo, n = 31	HDL normal, n = 648	HDL alto, n = 62	p1	p2	p3	p4
<b>Ala, mmol/L</b>	0,41 [0,37 - 0,44]	0,39 [0,35 - 0,43]	0,36 [0,34 - 0,39]	0,002	0,272	0,007	0,003
<b>Gln, mmol/L</b>	0,56 [0,54 - 0,60]	0,57 [0,53 - 0,60]	0,57 [0,53 - 0,60]	0,622	N.A	N.A	N.A
<b>Gly, mmol/L</b>	0,24 [0,23 - 0,26]	0,24 [0,22 - 0,26]	0,24 [0,22 - 0,22]	0,681	N.A	N.A	N.A
<b>His, mmol/L</b>	0,072 ± 0,009	0,070 ± 0,008	0,07 ± 0,007	0,752	N.A	N.A	N.A
<b>Ile, mmol/L</b>	0,09 [0,07 - 0,11]	0,07 [0,06 - 0,08]	0,06 [0,05 - 0,07]	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Leu, mmol/L</b>	0,10 [0,09 - 0,12]	0,09 [0,08 - 0,10]	0,09 [0,08 - 0,10]	<0,001	0,002	0,029	<0,001
<b>Val, mmol/L</b>	0,20 [0,18 - 0,24]	0,19 [0,17 - 0,21]	0,18 [0,16 - 0,20]	0,012	0,048	0,314	0,015
<b>Phe, mmol/L</b>	0,08 [0,07 - 0,09]	0,076 [0,07 - 0,08]	0,07 [0,06 - 0,07]	0,003	0,059	0,059	0,004
<b>Tyr, mmol/L</b>	0,05 [0,05 - 0,06]	0,05 [0,05 - 0,06]	0,05 [0,05 - 0,06]	0,063	N.A	N.A	N.A

Alanina (Ala); Glutamina (Gln); Glicina (Gly); Histidina (His); Isoleucina (Ile); Leucina (Leu); No aplica (N.A); Fenilalanina (Phe); Tirosina (Tyr); Valina (Val).

p1: el p-valor corresponde a las diferencias globales entre los grupos según la concentración de HDL, calculado mediante ANOVA o prueba de Kruskal-Wallis, según la distribución de las variables, paramétricas y no paramétricas, respectivamente. p2, p3, p4: Comparaciones post hoc ajustadas por Bonferroni para corrección por comparaciones múltiples. p2: HDL Control vs. HDL bajo; p3: HDL Control vs. HDL alto; p4: HDL bajo vs. HDL alto.

Las variables cuantitativas con distribución normal están expresadas como media ± desviación estándar, mientras que las variables cuantitativas con distribución no normal están expresadas como mediana [rango intercuartílico]. El p-valor se calculó con los test ANOVA o Kruskal Wallis respectivamente, realizando el correspondiente análisis post hoc Bonferroni si aplicaba. Las variables cualitativas están expresadas como porcentajes y la p se calculó con la prueba de Chi-cuadrado.

### 5.5. Correlaciones de Spearman entre el colesterol transportado por HDL, marcadores inflamatorios y aminoácidos.

Se encontró una correlación negativa significativa entre el colesterol transportado por HDL y los marcadores inflamatorios (PCR (rho = -0,15, p <0,001) y GlycA (rho = -0,43, p <0,001)) (Figura 6). Así mismo, existe una correlación negativa entre el colesterol transportado por HDL y los aminoácidos no ramificados (Ala (rho = -0,26, p <0,001)), ramificados (Ile (rho = -0,41, p <0,001), Leu (rho = -0,32, p <0,001) y Val (rho = -0,2, p <0,001) y aromáticos (Phe) (rho = -0,21, p <0,001) (Figura 7).

Aunque la correlación con PCR, Ala, Val y Phe es débil, su significancia estadística sugiere que existe una relación inversa entre estas variables y el HDL, lo que indica que a medida que aumentan las concentraciones de colesterol transportado por HDL, los niveles de las demás variables tienen a disminuir.

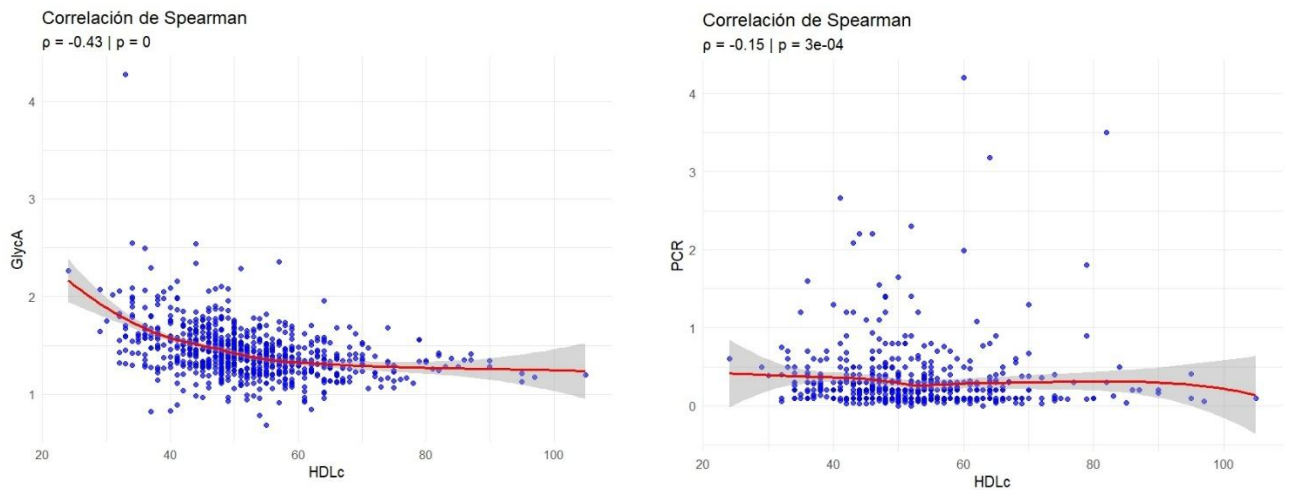
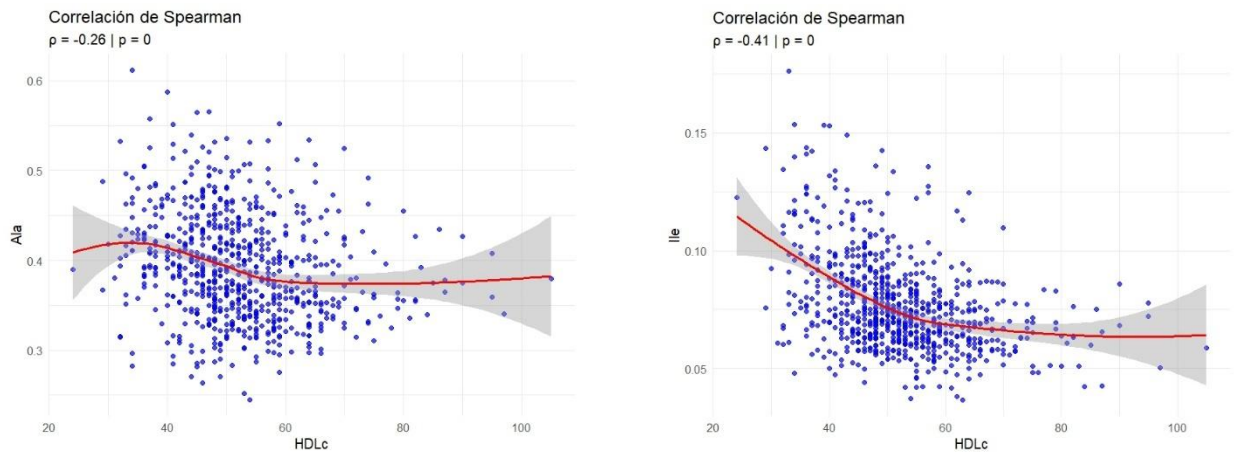
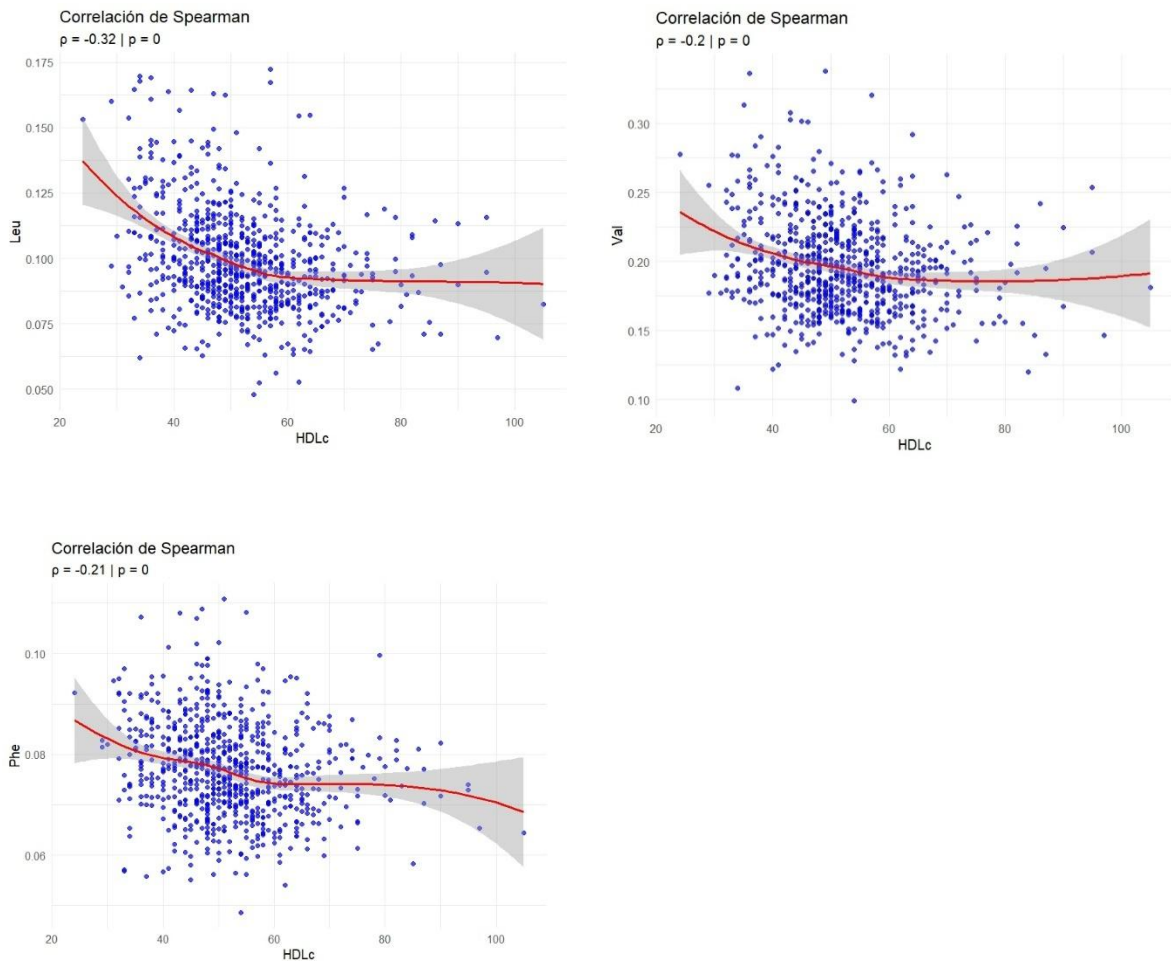


Figura 6. Correlaciones de Spearman entre el colesterol transportado por HDL y marcadores inflamatorios (PCR y GlycA)





**Figura 7. Correlaciones de Spearman entre el colesterol transportado por HDL y aminoácidos no ramificados (Ala), ramificados (Ile, Leu y Val) y aromáticos (Phe)**

## 6. DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizó la relación entre los niveles de colesterol HDL (HDLc) y distintos factores de riesgo cardiovascular ofreciendo una visión detallada sobre los efectos de los valores extremos de HDLc (por encima del percentil 90 y por debajo del percentil 10). El estudio se realizó en una subcohorte de 741 sujetos provenientes de la cohorte AWHs. Los sujetos fueron elegidos y divididos según sus niveles plasmáticos de HDL en HDLc alto, HDLc bajo y HDLc control. Una vez elegidos los sujetos a estudio, se determinó la concentración de los diferentes tipos de partículas HDLc según su tamaño, S, M, L, XL, así como la cantidad de TG y colesterol contenido en ellas. Además, se analizaron los marcadores de inflamación, PCR y GlycA, así como los perfiles de algunos aminoácidos (ramificados, no ramificados y aromáticos).

Numerosos estudios han demostrado que el riesgo cardiovascular está influenciado por múltiples factores de riesgo presentes en los individuos (50). Las HDL poseen propiedades

anti-aterogénicas y se relacionan inversamente con el riesgo cardiovascular (RCV) (51). Sin embargo, se ha demostrado que esta asociación no es lineal, sino que sigue un modelo en forma de “U”, ya que valores extremadamente altos de HDL también están relacionados con un aumento de eventos de ECV (25). Recientemente se ha llevado a cabo un estudio sobre la relación entre los niveles de HDLc y la mortalidad. El citado estudio se realizó en sujetos con hipercolesterolemia primaria, donde se habían excluido las causas secundarias. Los resultados mostraron que la asociación entre la mortalidad y el HDLc no presenta un fenómeno en forma de “U” y un HDLc elevado no se asocia de manera independiente con un aumento de la mortalidad. Por el contrario, un HDLc elevado mostró una menor mortalidad total, cardiovascular y no cardiovascular en comparación con otros grupos de HDLc, aunque esta asociación desapareció al ajustar otros factores de riesgo como el tabaquismo y la obesidad. (52)

Asimismo, investigaciones recientes respaldan la hipótesis de que los factores inflamatorios son un factor clave en el proceso aterosclerótico (18), del mismo modo que ciertos aminoácidos inducen respuestas inflamatorias, originando mayor capacidad de adhesión endotelial y migración de células inflamatorias causando disfunción endotelial y daño vascular. (44)

El análisis de las características clínicas, bioquímicas y antropométricas del estudio realizado muestra diferencias significativas en función de los niveles de HDLc de los sujetos. Se observa que el grupo con HDLc bajo posee un aumento significativo de la cantidad de TG. Esta mayor proporción de TG en el grupo HDLc bajo podría estar relacionada con una disfunción metabólica, afectando la capacidad de las HDL para realizar un transporte reverso eficiente del colesterol y, por lo tanto, comprometiendo su papel protector frente a la aterosclerosis, otorgando mayor riesgo cardiovascular al grupo HDLc bajo en comparación con el grupo HDLc alto, así como trastornos relacionados con la obesidad y el sobrepeso. (7) Este hecho que se demuestra ya que a pesar de que el grupo HDLc bajo posee menor cantidad de LDLc y CT, presentan un aumento significativo del IMC. Así mismo, los niveles de HbA1c son significativamente superiores en el grupo HDLc bajo, lo que justifica la mayor prevalencia de DM en ese grupo y la relación con las alteraciones metabólicas.

Por otro lado, si bien es cierto que estudios como FORTIAM han demostrado que unos niveles elevados de Lp(a) están relacionados con riesgo cardiovascular, (28) los resultados de nuestro estudio no muestran diferencias estadísticamente significativas de los niveles Lp(a) entre los grupos.

Los resultados reflejan que los pacientes con niveles altos de HDLc (por encima del percentil 90) no tienen un número mayor de factores de riesgo cardiovascular, sino que se observó una disminución significativa en cuanto a los valores de estos factores de riesgo. Sin embargo, los niveles HDLc bajos (por debajo del percentil 10) sí que se asociaron con un aumento significativo de los factores de riesgo.

Los resultados de este estudio reflejan en primer lugar, que los individuos con niveles extremadamente altos de HDLc presentan diferencias significativas en la composición y función de sus partículas HDL, lo que sugiere que la cantidad absoluta de HDLc no es un predictor suficiente del riesgo cardiovascular, sino que la composición y funcionalidad de las partículas HDL juegan un papel más relevante. El grupo con HDL alto contiene mayor cantidad de partículas XL y tienen en conjunto un tamaño mayor, pero es el grupo que

contiene mayor cantidad de partículas de tamaño S. Teniendo en cuenta que las partículas de tamaño S son las que realmente poseen las funciones en el transporte reverso del colesterol, encargadas de la eliminación del mismo, y por tanto parece que son las partículas de colesterol más funcionales, nuestros resultados sugieren que el grupo HDL alto tiene un mayor ratio de eliminación de colesterol lo que podría traducirse en un menor riesgo cardiovascular. (13)

En cuanto al análisis de los niveles de los biomarcadores inflamatorios, GlycA y PCR, los resultados muestran un aumento significativo de la concentración GlycA y PCR en el grupo con HDLc bajo en comparación con los sujetos con HDLc alto y el grupo control. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que los niveles bajos de HDLc podrían estar relacionados con un estado inflamatorio crónico debido a este aumento de los marcadores inflamatorios (18) y por ello se podría identificar y monitorear diversas enfermedades, como resistencia a la insulina, obesidad, apnea del sueño, cáncer y enfermedad cardiovascular. Por otro lado, la menor inflamación observada en el grupo con HDLc alto podría indicar un perfil metabólico más favorable, aunque habría que analizar otros factores metabólicos, genéticos e inflamatorios como, interleucinas, factores de necrosis tumoral, marcadores de disfunción endotelial o mutaciones genéticas asociadas a HDL para confirmar esta interpretación. (35–37)

Respecto al perfil de aminoácidos, se ha identificado una asociación entre niveles elevados de fenilalanina y la presencia de HDLc bajo. Esto es particularmente relevante, ya que estudios recientes han descrito el papel de la fenilalanina en la promoción de la senescencia celular y la disfunción cardíaca a través de la regulación del metabolismo hepático y miocárdico. Un estudio reciente de ratones envejecidos y muestras humanas refleja una reducción del metabolismo de la fenilalanina a nivel hepático lo que es clave en el aumento de este aminoácido a nivel plasmático. Así mismo, revelan que el corazón envejecido compensa este aumento mediante el catabolismo de la fenilalanina mediado por la fenilalanina hidroxilasa miocárdica que contribuye al deterioro de la función cardíaca. Por ello, los sujetos con HDLc bajo que cursan con niveles significativamente elevados de fenilalanina podrían tener mayor riesgo de desarrollar insuficiencia cardíaca debido al aumento del metabolismo de este aminoácido a nivel cardíaco. (45)

En el grupo con HDLc bajo también se han observado niveles elevados de aminoácidos de cadena ramificada (BCAA). Estos aminoácidos, entre los que se incluyen valina, leucina e isoleucina, están relacionados con diversas enfermedades cardiometabólicas como la diabetes, obesidad, ECV e hipertensión. (43,44,53) En este sentido, se han encontrado cifras mayores de BCAA en individuos con dislipemia, aumento de glucosa en sangre y enfermedad coronaria. (54) Los niveles plasmáticos de BCAA se asociaron positivamente con la ECV en un subestudio que se realizó dentro del proyecto PREDIMED.(55) Nuestros resultados muestran que el grupo de HDLc bajo presenta un aumento significativo de los niveles de estos aminoácidos, lo que podría estar relacionado con un mayor riesgo cardiovascular. Cabe destacar también la alanina, un aminoácido no ramificado, se ha relacionado con el desarrollo del síndrome metabólico. Nuestro estudio muestra un aumento de su concentración en los sujetos con HDLc bajo en comparación con el resto de grupos. (56)

Así, según la correlación de Spearman se ha demostrado que hay una correlación significativa negativa de las concentraciones de HDLc con los mencionados marcadores inflamatorios y los aminoácidos evaluados.

Estos hallazgos refuerzan la idea de que el HDLc no debe considerarse exclusivamente como un marcador protector, sino que su función y composición pueden modular su efecto sobre el riesgo cardiovascular, al igual que otros componentes metabólicos asociados a los niveles de HDLc tanto altos como bajos.

En cuanto a las limitaciones de este estudio hay que destacar:

- La falta de tamaño muestral suficiente en los grupos HDL bajo y alto para lograr una distribución más equilibrada y equitativa respecto al grupo control.
- A pesar de ello, hemos observado diferencias significativas que sugieren una fuerte relación entre la composición y funcionalidad de las HDL y los niveles de aminoácidos y factores de inflamación con el riesgo cardiovascular. Destacando que el grupo HDLc alto posee concentraciones inferiores de aminoácidos y factores de inflamación, lo que sugiere que pertenecer a este grupo podría ser un factor protector frente al riesgo cardiovascular.

Respecto a futuras líneas de investigación, sería conveniente determinar la interacción de la concentración de HDL con otros factores metabólicos e inflamatorios, entre los que destacan: la quinurenina (metabolito del metabolismo del triptófano), leptina, IL-6, IL-10 o TNF alfa, que se han visto involucrados en el metabolismo de lípidos y en procesos inflamatorios. (57,58)

Además, sería de utilidad, explorar posibles estrategias terapéuticas dirigidas a modular su composición y funcionalidad de HDL, en lugar de centrarse únicamente en su concentración en plasma. Cabe destacar que varios ensayos clínicos que se han realizado para aumentar las concentraciones de HDLc, Illuminate, Dal-Outcomes o más recientemente HPS2-THRIVE, no han sido exitosos. (59)

Así mismo, el siguiente paso sería evaluar si estos sujetos han sufrido algún evento cardiovascular o han desarrollado alteraciones relacionadas con el riesgo cardiovascular como puede ser la formación de placas ateroscleróticas o el aumento del calcio en arterias coronarias, indicador de aterosclerosis y factor de riesgo para el desarrollo del infarto de miocardio. (60)

## 7. CONCLUSIONES

- La concentración de HDLc por sí sola no es un predictor preciso del riesgo cardiovascular, ya que su efecto protector depende más de la composición y funcionalidad de las partículas HDL que de su cantidad total en plasma. Concretamente, las partículas HDL de pequeño tamaño tienen una mayor capacidad para participar en el transporte reverso de colesterol, facilitando su eliminación y contribuyendo a la protección cardiovascular.
- Los sujetos con HDLc bajo presentan un perfil metabólico menos favorable, ya que presentan una mayor concentración de triglicéridos en las partículas HDL y valores más elevados de marcadores inflamatorios (PCR y GlycA), lo que sugiere una mayor predisposición al desarrollo de aterosclerosis y, por ende, un aumento del riesgo cardiovascular.
- Los niveles de aminoácidos, especialmente fenilalanina y aminoácidos de cadena ramificada (isoleucina, leucina y valina), son significativamente superiores en sujetos con HDLc bajo, lo que guarda relación con una mayor resistencia a la insulina, disfunción endotelial y mayor riesgo de insuficiencia cardíaca.
- La evaluación del riesgo cardiovascular debería enfocarse en la funcionalidad y composición de las partículas HDL en lugar de su concentración total, integrando biomarcadores metabólicos e inflamatorios para una evaluación más precisa del riesgo de enfermedad cardiovascular.
- Los resultados de este estudio reflejan que los pacientes con concentraciones extremadamente elevadas de HDLc (por encima del percentil 90) no tienen un número mayor de factores de riesgo cardiovascular, sino que se observó una disminución significativa en cuanto a los valores de estos factores de riesgo. Así mismo, los niveles HDLc bajos (por debajo del percentil 10) sí que se asociaron con un aumento significativo de los factores de riesgo.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Real JT, Ascaso JF. Metabolismo lipídico y clasificación de las hiperlipemias. *Clínica e Investig en Arterioscler*. 2021 May 1;33:3–9. Doi: 10.1016/J.ARTERI.2020.12.008
2. Pasqualini JR. Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97(5):401–15. Doi: 10.1016/j.jsbmb.2005.08.004
3. Schekman R. Discovery of the cellular and molecular basis of cholesterol control. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(37):14833–6. Doi: 10.1073/pnas.1312967110
4. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J Lipid Res*. 2009;50(SUPPL.):S195–200. Doi: 10.1194/jlr.R800034-JLR200
5. Havel RJ. Triglyceride-rich lipoproteins and plasma lipid transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(1):9–19. Doi: 10.1161/ATVBAHA.108.178756/ASSET/64362BB4-007E-44EC-B002-BD7FD303E318/ASSETS/GRAPHIC/5FF4.JPEG
6. Lassel TS, Guerin M, Auboiron S, Guy-Grand B, Chapman MJ. Evidence for a cholesteryl ester donor activity of LDL particles during alimentary lipemia in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis*. 1999 Nov 1;147(1):41–8. Doi: 10.1016/S0021-9150(99)00161-6
7. 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 Investig en Arterioscler*. 2013 Apr 1;25(2):98–103. Doi: 10.1016/J.ARTERI.2013.05.003
8. Ridker PM. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *Lancet (London, England)*. 2014;384(9943):607–17. Doi: 10.1016/S0140-6736(14)61009-6
9. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarencu 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. *Eur Heart J*. 2011;32(11):1345–61. Doi: 10.1093/eurheartj/ehr112
10. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(4):431–8. Doi: 10.1161/ATVBAHA.108.179564
11. Johansen CT, Kathiresan S, Hegele RA. Genetic determinants of plasma triglycerides. *J Lipid Res*. 2011;52(2):189–206. Doi: 10.1194/jlr.R009720
12. Rosenson RS, Jr HBB, Sean W, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. of Reverse Cholesterol Transport. 2014;125(15):1905–19. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066589.Cholesterol
13. Santos-Gallego CG, Requena-Ibáñez JA, Badimón JJ. HDL: un nuevo biomarcador para la insuficiencia cardiaca. *Rev Española Cardiol*. 2022 Nov 1;75(11):858–60. Doi: 10.1016/J.RECESP.2022.04.026
14. Maranhão RC, Carvalho PO, Strunz CC, Pileggi F. Lipoprotein (a): structure, pathophysiology and clinical implications. *Arq Bras Cardiol*. 2014;76–84. Doi: 10.5935/abc.20140101

15. Li Y, Luke MM, Shiffman D, Devlin JJ. Genetic variants in the apolipoprotein(a) gene and coronary heart disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(5):565–73. Doi: 10.1161/CIRCGENETICS.111.959601
16. Teo KK, Rafiq T. Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective From Developing Countries. *Can J Cardiol*. 2021;37(5):733–43. Doi: 10.1016/J.CJCA.2021.02.009
17. Ascaso JF, Aguillo E, Araujo-Vilar D, Becerra A, Calvo FL, Carmena R, et al. Diabetes mellitus y riesgo cardiovascular. Recomendaciones del grupo de trabajo Diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular de la Sociedad Española de Diabetes 2006. *Clínica e Investig en Arterioscler*. 2007;19(3):147–52. Doi: 10.1016/s0214-9168(07)74189-x
18. Fabregat-Andrés Ó, Pérez-de-Lucía P, Vallejo-García VE, Vera-Ivars P, Valverde-Navarro AA, Tormos JM. Nuevo índice aterogénico para la predicción de aterosclerosis carotídea basado en la ratio proteína C reactiva no ultrasensible/HDL. *Clínica e Investig en Arterioscler*. 2024 Jan 1;36(1):12–21. Doi: 10.1016/J.ARTERI.2023.07.002
19. Acevedo M, Arnáiz P, Barja S, Bambs C, Berríos X, Guzmán B, et al. Proteína C reactiva y su relación con adiposidad, factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica en niños sanos. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60(10):1051–8. Doi: 10.1157/13111237
20. Lawler PR, Akinkuolie AO, Chandler PD, Moorthy MV, Vandenberg MJ, Schaumberg DA, et al. Circulating N-Linked Glycoprotein Acetyls and Longitudinal Mortality Risk. *Circ Res*. 2016;118(7):1106–15. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.308078
21. Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS. Association of Hypertension, Diabetes, Dyslipidemia, and Metabolic Syndrome with Obesity: Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J Am Coll Surg*. 2008;207:928–34. Doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.08.022
22. Zhang S, Li L, chen W, Xu S, Feng X, Zhang L. Natural products: The role and mechanism in low-density lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Phyther Res* . 2021 Jun 1;35(6):2945–67. Doi: 10.1002/PTR.7002
23. Luengo Fernández E, Rubio BO, Martínez CB, Gimeno ML. Obesidad, dislipemia y síndrome metabólico. *Rev Española Cardiol Supl*. 2005 Jan 1;5(4):21D–29D. Doi: 10.1016/S1131-3587(05)74117-0
24. Colombo GI, Bianconi V, Bonomi A, Simonelli S, Amato M, Frigerio B, et al. The association between hdl-c and subclinical atherosclerosis depends on cetp plasma concentration: Insights from the improve study. *Biomedicines*. 2021;9(3):1–14. Doi: 10.3390/biomedicines9030286
25. Riggs KA, Rohatgi A. HDL and Reverse Cholesterol Transport Biomarkers. *Methodist Debaque Cardiovasc J* . 2019;15(1):39–46. Doi: 10.1161/JAHA.121.024380
26. Ko DT, Alter DA, Guo H, Koh M, Lau G, Austin PC, et al. High-Density Lipoprotein Cholesterol and Cause-Specific Mortality in Individuals Without Previous Cardiovascular Conditions: The CANHEART Study. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(19):2073–83. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066589/SUPPL\_FILE/ROSENSON.PDF

27. Malick WA, Goonewardena SN, Koenig W, Rosenson RS. Clinical Trial Design for Lipoprotein(a)-Lowering Therapies: JACC Focus Seminar 2/3. *J Am Coll Cardiol.* 2023;81(16):1633–45. Doi: 10.1016/j.jacc.2023.02.033
28. Arrobas T, Barco A, Rico MÁ, de la Iglesia R, Oribe AI, Cruz C, et al. Influencia de la concentración de la lipoproteína(a) en la consecución de objetivos terapéuticos de colesterol LDL en pacientes de alto riesgo cardiovascular. Importancia del colesterol LDL corregido. *Clin e Investig en Arterioscler.* 2010;22(1):7–14. Doi: 10.1016/S0214-9168(10)70002-4
29. Gorriñer Teruel JL, Pallardó Mateu LM, Beltrán Catalán S. Tratamiento de la hipertensión arterial en la diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinol y Nutr.* 2008;55:83–91. Doi: 10.1016/S1575-0922(08)76268-5
30. Yano Y, Reis JP, Colangelo LA, Shimbo D, Viera AJ, Allen NB, et al. Association of Blood Pressure Classification in Young Adults Using the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guideline With Cardiovascular Events Later in Life. *JAMA.* 2018;320:1774–82. Doi: 10.1001/jama.2018.13551.
31. Barquilla García A, Mediavilla Bravo JJ, Comas Samper JM, Seguí Díaz M, Carramiñana Barrera F, Zaballos Sánchez FJ. Recomendaciones de la Sociedad Americana de Diabetes para el manejo de la diabetes mellitus. *Semergen.* 2010;36(7):386–91. Doi: 10.1016/j.semerg.2010.03.008
32. Cinza Sanjurjo S, Prieto Díaz MÁ, Llisterri Caro JL, Barquilla García A, Rodríguez Padial L, Vidal Pérez R, et al. Prevalencia de obesidad y comorbilidad cardiovascular asociada en los pacientes incluidos en el estudio IBERICAN (Identificación de la población Española de Riesgo Cardiovascular y reNal). *Med Fam Semer.* 2019;45(5):311–22. Doi: 10.1016/j.semerg.2018.11.003
33. Banegas JR, López-García E, Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, Rodríguez-Artalejo F. A simple estimate of mortality attributable to excess weight in the European Union. *Eur J Clin Nutr* 2003 572. 2003;57:201–8. Doi: 10.1038/sj.ejcn.1601538
34. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalence of General Obesity and Abdominal Obesity in the Spanish Adult Population (Aged 25–64 Years) 2014–2015: The ENPE Study. *Rev Española Cardiol (English Ed.* 69(6). Doi: 10.1016/j.rec.2016.02.009.
35. Akinkuolie AO, Pradhan AD, Buring JE, Ridker PM, Mora S. Novel Protein Glycan Side-Chain Biomarker and Risk of Incident Type 2 Diabetes Mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(6):1544–50. Doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305635
36. Lawler PR, Akinkuolie AO, Chandler PD, Moorthy MV, Vandenburg MJ, Schaumberg DA, et al. Circulating N-Linked Glycoprotein Acetyls and Longitudinal Mortality Risk. *Circ Res.* 2016;118(7):1106–15. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.308078
37. Chiesa ST, Charakida M, Georgiopoulos G, Roberts JD, Stafford SJ, Park C, et al. Glycoprotein Acetyls: A Novel Inflammatory Biomarker of Early Cardiovascular Risk in the Young. *J Am Heart Assoc.* 2022;11(4). Doi: 10.1161/JAHA.121.024380

38. Rabassa-Blanco J, Palma-Linares I, Rabassa-Blanco J, Palma-Linares I. Efectos de los suplementos de proteína y aminoácidos de cadena ramificada en entrenamiento de fuerza: revisión bibliográfica. *Rev Española Nutr Humana y Dietética*. 2017;21:55–73. Doi: 10.14306/renhyd.21.1.220
39. Gloria Kang GJ, Ewing-Nelson SR, Mackey L, Schlitt JT, Marathe A, Abbas KM SS. HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2018;176(1):139–48. Doi: 10.1097/MOL.0000000000000543.Emerging
40. Holeček M. Histidine in Health and Disease: Metabolism, Physiological Importance, and Use as a Supplement Milan. *Nutrients*. 2020;12(848). Doi: 10.3390/nu12030848
41. Zhao M, Wang K, Lin R, Mu F, Cui J, Tao X, et al. Influence of glutamine metabolism on diabetes Development:A scientometric review. *Heliyon*. 2024;10(4):e25258. Doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e25258
42. Riggs TR, McKirahan KJ. Action of Insulin on Transport of l-Alanine into Rat Diaphragm in Vitro. *J Biol Chem*. 1973;248(18):6450–5. Doi: 10.14797/MDCJ-15-1-39
43. Fine KS, Wilkins JT, Sawicki KT. Circulating Branched Chain Amino Acids and Cardiometabolic Disease. *J Am Heart Assoc*. 2024;13(7):1–12. Doi: 10.1161/JAHA.123.031617
44. Mescka CP, Guerreiro G, Donida B, Marchetti D, Wayhs CAY, Ribas GS, et al. Investigation of inflammatory profile in MSUD patients: benefit of L-carnitine supplementation. *Metab Brain Dis*. 2015;30:1167–74. Doi: 10.1007/s11011-015-9686-9
45. Czibik G, Mezdari Z, Murat Altintas D, Bréhat J, Pini M, D’Humières T, et al. Dysregulated Phenylalanine Catabolism Plays a Key Role in the Trajectory of Cardiac Aging. *Circulation*. 2021;144(7):559–74. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.054204
46. Casasnovas JA, Alcaide V, Civeira F, Guallar E, Ibañez B, Borreguero JJ, et al. Aragon workers’ health study - design and cohort description. *BMC Cardiovasc Disord*. 2012;12. Doi: 10.1186/1471-2261-12-45.
47. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, et al. Perfil lipídico de la población española: Estudio DRECE (Dieta y Riesgo de Enfermedad Cardiovascular en España). *Med Clin (Barc)*. 1999;113(19):730–5..
48. Ma S, Xia M, Gao X. Biomarker Discovery in Atherosclerotic Diseases Using Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8(July). Doi: 10.3389/fcvm.2021.681444
49. Soininen P, Kangas AJ, Würtz P, Tukiainen T, Tynkkynen T, Laatikainen R, et al. High-throughput serum NMR metabolomics for cost-effective holistic studies on systemic metabolism. *Analyst*. 2009;134(9):1781–5. Doi: 10.1039/B910205A
50. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105(3):310–5. Doi: 10.1161/hc0302.102575.

51. Trimarco V, Izzo R, Morisco C, Mone P, Virginia Manzi M, Falco A, et al. High HDL (High-Density Lipoprotein) Cholesterol Increases Cardiovascular Risk in Hypertensive Patients. *Hypertension*. 2022;79(10):2355–63. Doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19912
52. Bea AM, González-Guerrero A, Cenarro A, Lamiquiz-Moneo I, Climent E, Jarauta E, et al. Association of HDL cholesterol with all-cause and cardiovascular mortality in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2024;400(August 2024):118617. Doi:10.1016/j.atherosclerosis.2024.118617
51. Zhao X, Han Q, Liu Y, Sun C, Gang X, Wang G. The Relationship between Branched-Chain Amino Acid Related Metabolomic Signature and Insulin Resistance: A Systematic Review. *J Diabetes Res*. 2016;2016. Doi: 10.1155/2016/2794591
52. Fine KS, Wilkins JT, Sawicki KT. Circulating Branched Chain Amino Acids and Cardiometabolic Disease. *J Am Heart Assoc*. 2024;13(7):1–12. Doi: 10.1161/JAHA.123.031617
53. Yu L, Zhu Q, Li Y, Song P, Zhang J. Dietary Branched-Chain Amino Acids (BCAAs) and Risk of Dyslipidemia in a Chinese Population. *Nutrients*. 2022;14(9). Doi: 10.3390/nu14091824
54. Gómez-gracia E, Ph D, Ruiz-gutiérrez V, Ph D, Fiol M, Ph D. Primary prevention of cardiovascular disease with a mediterranean diet. *Zeitschrift fur Gefassmedizin*. 2013;10(2):28. Doi: 10.1056/nejmoa1200303
55. Bruguera M. Guía práctica para el examen del paciente adulto con hipertransaminasemia asintomática. *Gastroenterol Hepatol*. 2019;40:99–106. Doi: 10.1016/j.gastrohep.2016.03.001
56. Chen CC, Wang SS, Lee FY, Chang FY, Lee SD. Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(1):213–8. Doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.00709.x
57. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Rev Española Reumatol*. 1986;319(516–518). Doi: 10.1016/s0092-8674(03)00755-4
58. Badimón JJ, Ibáñez B. Incremento de las HDL como arma terapéutica en la aterotrombosis. *Rev Española Cardiol*. 2010;63(3):323–33. Doi: 10.1016/S0300-8932(10)70091-9
59. Taylor AJ, Bindeman J, Feuerstein I, Cao F, Brazaitis M, O'Malley PG. Coronary calcium independently predicts incident premature coronary heart disease over measured cardiovascular risk factors: Mean three-year outcomes in the Prospective Army Coronary Calcium (PACC) project. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(5):807–14. Doi:10.1016/j.jacc.2005.05.049
53. Zhao X, Han Q, Liu Y, Sun C, Gang X, Wang G. The Relationship between Branched-Chain Amino Acid Related Metabolomic Signature and Insulin Resistance: A Systematic Review. *J Diabetes Res*. 2016;2016. Doi: 10.1155/2016/2794591
54. Yu L, Zhu Q, Li Y, Song P, Zhang J. Dietary Branched-Chain Amino Acids (BCAAs) and Risk of Dyslipidemia in a Chinese Population. *Nutrients*. 2022;14(9). Doi: 10.3390/nu14091824

54. Gómez-gracia E, Ph D, Ruiz-gutiérrez V, Ph D, Fiol M, Ph D. Primary prevention of cardiovascular disease with a mediterranean diet. *Zeitschrift fur Gefassmedizin*. 2013;10(2):28. Doi: 10.1056/nejmoa1200303
55. Bruguera M. Guía práctica para el examen del paciente adulto con hipertransaminasemia asintomática. *Gastroenterol Hepatol*. 2019;40:99–106. Doi: 10.1016/j.gastrohep.2016.03.001
56. Chen CC, Wang SS, Lee FY, Chang FY, Lee SD. Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(1):213–8. Doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.00709.x
57. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Rev Española Reumatol*. 1986;319(516–518). Doi: 10.1016/s0092-8674(03)00755-4
58. Badimón JJ, Ibáñez B. Incremento de las HDL como arma terapéutica en la aterotrombosis. *Rev Española Cardiol*. 2010;63(3):323–33. Doi: 10.1016/S0300-8932(10)70091-9
59. Taylor AJ, Bindeman J, Feuerstein I, Cao F, Brazaitis M, O'Malley PG. Coronary calcium independently predicts incident premature coronary heart disease over measured cardiovascular risk factors: Mean three-year outcomes in the Prospective Army Coronary Calcium (PACC) project. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(5):807–14. Doi:10.1016/j.jacc.2005.05.049